

**Kallikreinausscheidung im Urin:
Abhängigkeit von Lebensalter,
Elektrolytzufuhr und -verminderung
sowie bei essentieller Hypertonie**

vorgelegt von

Hans Stimmer

1985

*Diss
München*

Medizinische Klinik Innenstadt
der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. E. Buchborn)

Kallikreinausscheidung im Urin:

- Abhängigkeit von Lebensalter,
Elektrolytzufuhr und -verminderung
sowie bei essentieller Hypertonie

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilian-Universität München

vorgelegt von
Hans S t i m m e r
aus Garmisch-Partenkirchen

1985

Mit Unterstützung der DFG, Bonn

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. P.C. Weber

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.10.1985

INHALT

INHALT

INHALT

I. Einleitung des Verfägers

II. Einleitung des Verfägers

1. Einleitung

2. Einleitung

3. Einleitung

4. Einleitung

MEINEN ELTERN

III. Einleitung des Verfägers

IV. Einleitung des Verfägers

1. Einleitung

2. Einleitung

3. Einleitung

V. Einleitung des Verfägers

INHALTSVERZEICHNIS

=====

EINLEITUNG

Seite

A

STAND DER FORSCHUNG

- | | | |
|------|---|---|
| I. | Nomenklatur des Kallikrein-Kinin-Systems | 3 |
| II. | Renales Kallikrein-Kinin-System | 4 |
| | 1. Wirkungen | |
| | 2. Abbau - Lokalisation | |
| | 3. Physiologie | |
| | 4. Zusammenhang mit dem Prostaglandin-system | |
| | 5. Zusammenhang mit dem Renin-Angiotensin-system | |
| III. | Veränderungen der Kallikreinausscheidung und ihre Beziehung zur essentiellen Hypertonie | 9 |
| | 1. Kallikreinausscheidung vermindert | |
| | 2. Kallikreinausscheidung erhöht | |
| | 3. Kallikreinausscheidung und Hypertonie | |

B

FRAGESTELLUNG

C	METHODIK DER QUANTITATIVEN BESTIMMUNG -----	Seite
	RENALEN KALLIKREINS -----	
I.	Grundlage des Verfahrens	15
II.	Beschreibung des Verfahrens	15
III.	Eichkurve - Umrechnungsfaktor	17
IV.	Reagenzien	19
	Reinkallikrein - Substrat S 2266 -	
	Puffer - Essigsäure	
V.	Analytische Parameter	25
	Genauigkeit - Nachweisgrenze -	
	Empfindlichkeit	
D	STATISTIK -----	
E	ERGEBNISSE -----	
	KALLIKREINAUSSCHIEDUNG BEI SÄUGLINGEN -----	
	UND KLEINKINDERN -----	
I.	Probandenauswahl - Untersuchungsintervalle	29
II.	Bestimmung der Parameter Natrium, Kalium und Blutdruck	30

III. Ergebnisse	Seite
1. Querschnittsbetrachtung	31
Mittelwerte - Verläufe	
1.1 Im Gesamtkollektiv	
1.2 Unterschiede männliches- weibliches Kollektiv	
2. Regressionsanalysen	40
2.1 Einfache lineare Regression	
2.2 Multiple Regression	

F AUSSCHIEDUNG VON KALLIKREIN BEI

ESSENTIELLER HYPERTONIE ERWACHSENER

I. Probanden - Kriterien	46
II. Ergebnisse	48
1. Basalausscheidung an Kallikrein	
2. Nach Veränderung der Kochsalzzufuhr	
3. Kalium-, Natrium- und Kreatinin- ausscheidungen	
4. Korrelationen	

G	DISKUSSION -----	Seite
I.	Methodik	57
II.	Teil E (Untersuchungen an Säuglingen und Kleinkindern)	61
III.	Teil F (Kallikreinausscheidung bei Normo- tonikern und Patienten mit essen- tieller Hypertonie)	72
H	ZUSAMMENFASSUNG -----	77
I	ANHANG (Tabellen) ----- LITERATURHINWEISE	

Abkürzungen:

KKS	= Kallikrein-Kinin-System
LMW-KKS	= Niedermolekulares Kallikrein-Kinin-System
HMW-KKS	= Hochmolekulares Kallikrein-Kinin-System
KE	= Kallikreineinheiten
KIE	= Kallikreininhibitoreinheiten
BAEE	= Alpha-N-Benzoyl-Arginin-Äthylester
TAME	= Alpha-N-Tosyl-L-Arginin-(3H)-Methylester
S-2266	= chromogenes Substrat H-D-Val-Leu-Arg-pNA der Fa. Kabi Diagnostica Schweden
RIA	= Radioimmunoassay
RAS	= Renin-Angiotensin-System
PRA	= Plasma-Renin-Aktivität
NP	= Normalperson (normoton)
EH	= Proband mit essentieller Hypertonie
ss	= salzsensitiv, entspricht "responder"
ns	= nicht salzsensitiv, entspricht "non responder"
r	= Korrelationskoeffizient aus einfacher linearer oder multipler Regression
SD	= Standardabweichung
S.E.M.	= Mittlerer Fehler des Mittelwertes

EINLEITUNG

J.E. Abelous und E. Bardier (3) entdeckten 1909 eine blutdrucksenkende Substanz im menschlichen Urin. Die einem Hund i.v. injizierte alkoholunlösliche Fraktion aus 80 ml menschlichen Urins bewirkte bei diesem einen deutlichen Abfall des systolischen Blutdruckes von 8-10 minütiger Dauer, wobei die Ausgangshöhe des Blutdruckes erst nach weiteren 13 Minuten wieder erreicht wurde.

25 Jahre später führten Elliott und Nuzum die erste Studie durch, in der die Ausscheidung einer depressorischen Substanz im Urin bei essentieller Hypertonie untersucht wurde, die zeigte, daß diese bei Bluthochdruck unter der Norm lag (13).

Ausgehend von der Vermutung, daß dieser Effekt durch ein im Blut zirkulierendes Hormon verursacht würde, begann die Suche nach dessen Ursprung. Frey, Kraut und Werle (16) fanden größere Mengen dieser Substanz zunächst nur im Pankreas und gaben ihr deshalb den Namen Kallikrein, abgeleitet von der griechischen Bezeichnung "Kallikreas" für die Bauchspeicheldrüse. Erst 1971 griffen Margolius et al. (32) diese frühen Ergebnisse der Kallikreinforschung wieder auf und konnten in ihrer eigenen Studie den inversen Zusammenhang zwischen Blutdruck und Kallikreinausscheidung bei Hypertonikern belegen mit Ausnahme der Patienten, die an primärem Hyperaldosteronismus litten und erhöhte Kallikreinausscheidungs-raten aufwiesen.

In zwei neueren Untersuchungen wird über die blutdruck-senkende Wirkung verabreichten Reinkallikreins berichtet. Mills (38) stellte nach i.v. Injektion von glandulärem Kallikrein an narkotisierten Hunden eine Blutdrucksenkung fest, die nach Abklemmen der Niere aus dem Blutkreislauf noch deutlicher ausfiel.

R

Nach oraler Gabe von Reinkallikrein (Padutin) fanden Overlack et al. (46) an 15 Patienten mit essentieller Hypertonie und 10 Normotonikern reduzierte Blutdruckwerte. Dieser Befund war bei Hypertonikern stärker ausgeprägt als bei der Kontrollgruppe und insgesamt bei den Probanden deutlicher, die geringere Kallikreinausscheidungen im Urin zeigten.

A S T A N D D E R F O R S C H U N G

I. Nomenklatur des Kallikrein-Kinin-Systems

Nach ihrer Funktion und Lokalisation lassen sich heute
2 Kallikreinsysteme unterscheiden:

- Das hochmolekulare Plasma-Kallikrein-Kinin-System;
(HMW-KKS) Molekulargewicht des Plasma-Kallikreins
um 90 000.

Plasma-Kallikrein liegt als Proenzym vor und setzt in
aktivierter Form aus dem Substrat (HMW)-Kininogen das
Nonapeptid Bradykinin frei (66). Die einzelnen Komponenten
des Plasma-KKS spielen eine wichtige Rolle bei Gerinnung,
Fibrinolyse und Komplement-Aktivierung. Der Ursprung die-
ses Enzyms ist noch unbekannt (67).

- Das niedermolekulare Drüsen- bzw. Gewebs-Kallikrein-
Kinin-System; Low Molecular Weight Kallikrein-Kinin-
System (LMW-KKS).

Hier handelt es sich um verschiedene Kallikreine mit einem
Molekulargewicht zwischen 26 000 und 37 000 aus verschie-
denen Ursprungsorganen, vor allem Niere, Pankreas,
Glandula submandibularis, Darm, Fibroblasten. Menschliche
Organ-Kallikreine sind strukturell nahe verwandt. So be-
steht große Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz, vor
allem im Bereich des aktiven Zentrums dieser Enzyme (17).

Beim Schwein konnte die Identität von Urin-Kallikrein, Speicheldrüsen-Kallikrein und Pankreas-Kallikrein weitgehend gesichert werden. Entsprechend den beiden Systemen sind im Serum 2 Substrate vorhanden, ein hochmolekulares (HMW) und ein niedermolekulares (LMW) Kininogen, die der Alpha -Globulinfraktion zugehören. Die Organkallikreine² setzen Kallidin frei, aus dem Bradykinin durch Abspaltung eines N-terminalen Lysinrestes entsteht. Die biologischen und pharmakologischen Wirkungen von Kallidin und Bradykinin sind weitgehend identisch.

II. Renales KKS

Das renale KKS, um das es in dieser Arbeit ausschließlich geht, besteht aus dem Enzym Kallikrein, einer Serinproteinase, seinem Substrat (LMW)-Kininogen und dem Reaktionsprodukt Kallidin (entsprechend Lys-Bradykinin), das alle biologischen und pharmakologischen Eigenschaften besitzt, die dem System zugeschrieben werden.

1. Wirkungen

Charakteristische Eigenschaften der Kinine sind Vasodilatation von Arteriolen und Präkapillaren, Vasokonstriktion von Venolen und die Permeabilitätssteigerung in der Gefäßendstrombahn. Die natriuretische und diuretische Wirkung wird teilweise durch Prostaglandine vermittelt (66, 67).

2. Abbau - Lokalisation

Die Halbwertszeit der Kinine im Organismus ist kurz (ca. 15-45 sec.) wegen der Wirkung der Kininasen. Die wichtigsten Kininasen sind die relativ unspezifische, plasmaständige Kininase I (carboxypeptidase N), eine Exopeptidase, welche die Kinine zu einzelnen Aminosäuren abbaut, und die Kininase II, identisch mit dem Angiotensin-I-Converting-Enzym des RAS, eine Endopeptidase, die Bradykinin abbaut (6, 58).

Die Kininase II ist zum geringeren Teil plasmaständig, zum größeren Teil in Zellmembranen enthalten, vor allem in Gefäßendothelzellen sowie in Tubulusepithelzellen der Niere. Mit Hilfe der Immunfluoreszenzmikroskopie konnte deren Lokalisation an der Zelloberfläche nachgewiesen werden (63,64,42).

Nach der Lunge mit über 60 % enthält die Niere einen wesentlichen Teil der dem Körper zur Verfügung stehenden Kininase-II-Aktivität (54, 55).

In den Nieren werden glomerulär filtrierte Kallikrein ebenso wie Kinine von den Bürstensaummembranen der proximalen Tubulusepithelzellen (brush border membranes) praktisch quantitativ eliminiert und erscheinen nicht im Endharn (63, 64). Daraus ergibt sich, daß es sich bei dem im Urin gemessenen Kallikrein hauptsächlich um renal gebildetes Kallikrein handelt. Dieser Sachverhalt wird bestätigt durch die Tatsache, daß das aus Nierengewebe extrahierte oder auf

Nierenschnitten synthetisierte Enzym mit dem im Urin gefundenen identisch ist (42).

Seinem Ursprung entsprechend sollte dieses Kallikrein als renales Kallikrein bezeichnet werden. Die Bezeichnung Urinkallikrein wird aber wegen der Verwendung im internationalen Schrifttum auch in dieser Arbeit beibehalten. Stop-flow Studien am Hund lassen darauf schließen, daß renales Kallikrein in Höhe des distalen Tubulus sezerniert wird (54).

In Übereinstimmung damit wurde das Enzym immunfluoreszenzmikroskopisch im distalen Tubulus insbesondere im Bereich zwischen Macula densa und Sammelrohr lokalisiert. Die Synthese erfolgt in der Nierenrinde (42, 44), wo auch die höchsten Konzentrationen bei von außen nach innen abnehmendem Gradienten gefunden werden. Geringe Mengen sind auch im Glomerulus und in der Medulla nachgewiesen worden (42). Ob sich die unmittelbaren Wirkungen des renalen Kallikreins auf die Niere beschränken, ist derzeit noch nicht geklärt. Möglicherweise erreicht ein Teil des renalen Kallikreins über die Nierenlymphe die Blutzirkulation (42).

Nach Angabe von Pisano et al. (47) wurde renales Kallikrein jedoch im Plasma bislang nicht nachgewiesen. Geiger et al. fanden 10-15 ng/ml (glanduläres Kallikrein) im menschlichen Plasma. Zur Vergewisserung, daß es sich dabei nicht etwa um niedermolekulare Abbauprodukte handelt, wurden Serumproben der Gelfiltration unterzogen und die Fraktionen im Radioimmunoassay untersucht.

Die Gelfiltration ergab ein Proteinmaximum bei einem MW von ungefähr 80 000, während sich die Kallikreinaktivität bei einem MW von 50 000 anreicherte.

Eine weitergehende Differenzierung der glandulären Kallikreine im Serum mit Hilfe des Radioimmunoassays war jedoch wegen deren immunologischen Kreuzreaktion nicht möglich (18).

3. Physiologie

Die physiologische Funktion des Kallikrein-Kinin-Systems der Niere ist noch in großen Teilen unbekannt. Eine Beteiligung an der Regulation der Natrium-, Kalium- und Wasserausscheidung ist jedoch sehr wahrscheinlich.

4. Zusammenhang mit dem Prostaglandinsystem

Die diuretische und natriuretische Wirkung der Kinine wird zum Teil durch Prostaglandin vermittelt. So stimuliert Bradykinin die Prostaglandinsynthese (41) und beeinflusst beeinflusst wahrscheinlich auch die PG E_2 -9-Ketoreduktaseaktivität (41), welche die Interkonversion von PG E_2 zu PG F_2 katalysiert (28). Hierüber könnte das System an der Kontrolle des Arterien- und venentonus und der Reninfreisetzung unter Einfluß der NaCl-Bilanz und der Größe des Extrazellulärvolumens beteiligt sein (66).

5. Zusammenhang mit dem RAS

Das Converting Enzym des Renin-Angiotensin-System, das die Bildung des vasokonstriktorisch wirkenden Angiotensin II katalysiert, welches über die Stimulation der Aldosteronproduktion zu einer Natriumretention und gesteigerten Kaliumexcretion führt, ist identisch mit der Kininase II des KKS, die die natriuretisch und dilatatorisch wirkenden Kinine abbaut. Damit konkurrieren diese beiden funktionell entgegengesetzt wirkenden Peptidhormone in kompetitiver Weise um den gleichen Enzymrezeptor (57), wobei die Kinine die höhere Affinität zu dem Enzym besitzen.

Obwohl die genauen physiologischen Zusammenhänge über die Kopplung dieser drei verschiedenen Hormonsysteme mit ihren unterschiedlichen biologischen Wirkungen noch nicht geklärt sind, kann angenommen werden, daß sowohl synergistische wie antagonistische Effekte bezüglich des Natriumchlorid- und Volumenhaushaltes als auch bezüglich der Einstellung des Gefäßwiderstandes bestehen (66).

III. Veränderungen der Kallikreinausscheidung und ihre

Beziehung zur essentiellen Hypertonie

Die Beteiligung des K.K.S. an den obengenannten Effekten wird durch Untersuchungen belegt, bei denen pathologische oder experimentell bedingte Veränderungen mit Änderungen der Ausscheidung Kallikreins einhergehen.

1. Verminderung der Kallikreinausscheidung

Eine verminderte Kallikreinausscheidung wird gefunden u.a. bei essentiellen und renalen Hypertonieformen (9, 11, 22, 32, 35, 68), experimentell erzeugter Glomerulonephritis (23, 39), salzreicher und/oder kaliumarmer Ernährung (9, 30, 45, 70).

Nach Werle fällt die Kallikreinausscheidung nach Nierentransplantation zunächst deutlich ab. Wird das Transplantat toleriert, steigen die Werte allmählich wieder an. Kommt es zur Abstoßungsreaktion, imponiert ein Abfall der Kallikreinaktivität noch bevor die üblichen klinischen Parameter eine Funktionsstörung anzeigen (69).

Auch andere Nierenerkrankungen wie Nephrosen, diabetische Glomerulosklerose und Schwangerschafts-Nephropathie gehen mit erniedrigten Urin-Kallikreinwerten einher (39). Bei einem Patienten mit Phäochromozytom fiel die Kallikreinausscheidung nach Tumorentfernung um 80 % ab, was auch Zusammenhänge auf mit dem Sympato-Adrenergen-System schließen läßt (35).

2. Gesteigerte Kallikreinausscheidung

Hohe Kallikreinausscheidungen finden sich dagegen unter Bedingungen einer kochsalzarmen und/oder kaliumreichen Diät, beim primären Hyperaldosteronismus und beim Bartter-Syndrom (27, 33, 35, 47). Eine zumindest mittelbare Beteiligung des KKS an der renalen Durchblutung und der Salz-Wasser-Ausscheidung erscheint damit, soweit heute beurteilbar, wahrscheinlich (66).

Neben der Beteiligung an der Regulation des Natriumchlorid- und Kalziumhaushaltes im Organismus scheint damit für klinische Fragestellungen die Bedeutung bei der Regulation des Blutdruckes interessant zu sein.

3. Kallikreinausscheidung und Hypertonie

Die Häufigkeit und Folgen der essentiellen Hypertonie sowie die Probleme bei deren chronischer Behandlung sind wesentliche Motive weitere Einblicke in Pathogenese und Pathophysiologie zu erlangen. Eine ursächliche Behandlung des Krankheitsverlaufes ist bislang nicht möglich. Dazu wären Kenntnisse über die Pathogenese und Ursache der Erkrankung wesentlich, die dann möglicherweise Wege zur Erkennung gefährdeter Bevölkerungsteile aufzeigen könnten. Genetische Unterschiede im renalen Kallikrein-Kinin-System werden diskutiert und scheinen für Schwarze nachgewiesen.

Ergebnissen U.S-amerikanischer Studien zufolge war die Kallikreinausscheidung bei insgesamt 601 untersuchten Kindern und Jugendlichen im Alter von 5-18 Jahren für Schwarze deutlich niedriger als für Weiße (71, 72). Obwohl ein Unterschied im Bluthochdruckverhalten in diesen Lebensaltern nicht feststellbar war, haben Schwarze doch eine 2-fach höhere Prävalenz an Hypertonus zu erkranken (62) und eine erheblich höhere Erkrankungswahrscheinlichkeit für Nephrosklerose (30a). Nach Vergleich gleicher Altersgruppen und Geschlechter wiesen Schwarze eine um durchschnittlich 8 mmol niedrigere Natriumausscheidung auf, die jedoch nicht signifikant war. Dieser Sachverhalt wurde von anderen Autoren auch für Erwachsene bestätigt (35). Die Reagibilität des renalen KKS auf Änderung der Kochsalzzufuhr ist für Hyper- und Normotoniker bei schwarzen Erwachsenen geringer als bei Weißen (25, 47, 30, 60).

In Bezug auf die verminderte Kallikreinausscheidung bei Schwarzen fragt man sich, warum diese ein weniger aktives renales KKS-System entwickelt haben. Das Kallikreinsystem ist ein Gewebshormonsystem, das neben der Beeinflussung des Natriumhaushaltes auch Wirkungen auf den Kaliumhaushalt hat, da kaliumreiche Diät die Kallikreinausscheidung stimuliert (35). Nun schieden Schwarze während einer 24-Stunden-Periode weniger Kalium aus als Weiße. Dies veranlaßte Helmer (21) zu seiner Theorie, daß ein renaler Mechanismus, der evolutionär an die Erhaltung der Homöostase in den diätisch salz-

et

armen und kaliumreichen subtropischen Regionen angepaßt ist, sich für diese Bevölkerungsgruppe nachteilig auswirkt, sobald sie unter den salzreichen und kaliumarmen Ernährungsgewohnheiten westlicher Zivilisationen lebt.

Für Kinder und Jugendliche ergab sich für die Randbereiche eines Kollektivs eine inverse Beziehung zwischen Blutdruck und Kallikreinausscheidung. Kinder hypertensiver Mütter hatten einen signifikant höheren Blutdruck als die Vergleichsgruppe. Gleichzeitig fand sich eine hohe familiäre Übereinstimmung in Bezug auf die Kallikreinexcretion (71, 72). Dieser Befund wurde mit zunehmendem Alter deutlicher (11, 71, 72). Dieses Phänomen des "blood pressure tracking" wurde bei Verlaufsuntersuchungen an Säuglingen und im frühen Kindesalter auch von unserer Arbeitsgruppe bestätigt (53).

Abweichend von früheren Auffassungen wird heute zunehmend die essentielle Hypertonie als eine Erkrankung auch des Kindes- und Jugendalters angesehen, aus der sich später die essentielle Hypertonie des Erwachsenen entwickelt (52). Angesichts der Tatsache, daß Kinine eine Vasodilatation bewirken und natriuretische Eigenschaften besitzen (8, 33, 35), ist ein Defekt des KKS mit der Folge einer renalen Vasokonstriktion und Salzretention als eine der Ursachen der Hochdruckkrankheit zumindest gut vorstellbar. Falls dabei dem renalen Kallikrein als Marker eines genetisch determinierten Defektes eine Rolle zukommt, erscheint

es im Hinblick auf die eventuell mögliche Früherkennung wichtig, zunächst Kenntnis über den Verlauf der Kallikreinausscheidung beim gesunden Neugeborenen bis ins frühe Kindesalter zu erlangen. Bisherigen Veröffentlichungen ist dazu nur ein Hinweis wie "die Kallikreinausscheidung im Urin ist bei Kindern geringer als beim Erwachsenen und nimmt jenseits des 60. Lebensjahres wieder ab", zu entnehmen (16). Studien liegen nur über 2-18 jährige Kinder bzw. Jugendliche vor (71, 72). Diese ergaben aber ebenfalls keine Hinweise auf den Verlauf, da die Altersgruppen als ein Kollektiv betrachtet wurden.

B F R A G E S T E L L U N G

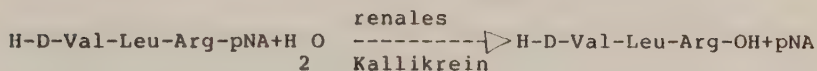
Quer- und Längsschnittuntersuchungen der Kallikreinausscheidung in verschiedenen Altersstufen vom 3. Lebenstag bis zum 3. Lebensjahr sollten Aufschluß über die normale Altersentwicklung dieses Systems geben. Weiterhin sollten Korrelationen der renalen Kallikreinausscheidung mit den im Urin ausgeschiedenen Konzentrationen von Kreatinin, Natrium und Kalium sowie mit den Parametern Blutdruck systolisch und diastolisch und dem Körpergewicht angestellt werden.

In einer zweiten Untersuchungsserie sollte sodann die Kallikreinausscheidung bei erwachsenen Normalpersonen und Hypertonikern bei unterschiedlicher Natriumzufuhr gemessen werden. Hier sollte die Kallikreinausscheidung in Beziehung zu verschiedenen anderen Parametern bei normalem Salzgehalt der Kost und bei reduzierter Salzaufnahme untersucht werden, um eventuelle spezifische Unterschiede zwischen EH und NP aufzuzeigen. Beide Kollektive wurden zusätzlich hinsichtlich der Blutdruckantwort nach NaCl-Belastung in "Salzsensitive" und "Nicht-sensitive" eingeteilt und untersucht.

C M E T H O D I K D E R Q U A N T I T A T I V E N B E S T I M M U N G R E N A L E N K A L L I K R E I N S

I. Grundlage des Verfahrens

Die Kallikreinbestimmung erfolgte mit den synthetischen Amidsubstrat S-2266 D-Valyl-L-Leucyl-L-Arginin-p-Nitroanilid (MW 579.6) der Fa. Kabi Diagnostics nach der Formel



Die chromogene Gruppe dieses Substrates, die bei der enzymatischen Hydrolyse durch Kallikrein in Form einer gelb gefärbten Verbindung, mit dem p-Nitroanilin (pNA), freigesetzt wird, kann direkt photometrisch gemessen werden.

II. Beschreibung des Verfahrens

Um die Vorteile einer 2-Punktemessung zu nutzen, die eine längere Inkubationszeit ohne Aufsicht ermöglicht und es damit erlaubt, mehrere Proben gleichzeitig zu bestimmen, mußte von jedem Urin ein Probe- und ein Leeransatz erstellt werden.

Im Leeransatz wurde die Kallikreinaktivität durch Aprotinin (Trasylol R), einem aus Rinderlunge gewonnenen Proteinasehemmer, unterdrückt. Die durch Kallikreinaktivität hervorgerufene Extinktionsänderung ermittelt sich dann aus der

Extinktion des Ansatzes ohne Trasylol minus der durch Eigenfarbe des Urins und eventuelle andere Parameter hervorgerufenen Extinktion des Leeranstzes.

	Ansatz	Leerprobe

Kallikrein:	0,4 ml	0,4 ml
Tris-Puffer: 0,2 molar	0,5 ml	0,4 ml
Trasylol:	---	0,1 ml
=====		
Substrat: S-2266	0,1 ml	0,1 ml
=====		
Essigsäure: 0,4-molar	0,1 ml	0,1 ml

Ges. Volumen:	1,1 ml	1,1 ml

Um Adsorptionen an Glasoberflächen zu vermeiden, wurden Plastikküvetten und -Pipettenspitzen verwendet. Zur Erstellung der Ansätze wurden die Küvettenboxen mit Eis gefüllt.

Anschließend Start der enzymatischen Reaktion durch Zugabe von 0,1 ml 0,2-molaren Substrates und zugleich Inkubation im Heizblock bei 37 Grad C.

Um einen definierten Endpunkt zu erhalten, wurde die Reaktion nach genau 30 min. durch Zugabe von 0,1 ml 0,4-molarer

Essigsäure gestoppt.

Die fotometrische Messung erfolgte bei Zimmertemperatur in 1 ml-Halbmikroküvetten mit 1,00 cm Lichtweg. Blende 2,5 x 5 mm. Wellenlänge 405 nm.

III. Eichkurve

Zur Bestimmung von Kallikrein in wässriger Lösung wurde Reinkallikrein in 0,05 molarem Tris-Puffer gelöst und Verdünnungsreihen hergestellt, die Konzentrationen von 0,01 bis 0,1 oder 0,2 KE pro Ansatz (1 ml) ergaben. Zur Verwendung gelangte hochgereinigtes Pankreaskallikrein vom Schwein in Trockenampullen zu 10 mg (Padutin R der Fa. Bayer AG) mit einem Reinheitsgrad zwischen 1030 bis 1374 KE/mg.

Meßansätze:

	Probe	Leerwert

Tris-Puffer 0,05 molar	0,8 ml	0,9 ml
Kallikrein-Lösung	0,1 ml	---
Substrat S-2266	0,1 ml	0,1 ml
=====		

Inkubation bei 37 Grad C und Stop nach 30 min.

Essigsäure 0,1 molar	0,1 ml	0,1 ml
-------------------------	--------	--------

Fotometrische Messung wie unter C II.

Eine Eichkurve wurde zu jeder neuen Meßserie angefertigt. Eine Auswahl repräsentativer Eichkurven ist in Abb. 1 ersichtlich. Unterschiedliche Steigungen der Eichkurven ergaben sich ausschließlich aus Änderungen der Qualität des Reinkallikreins. Andererseits nahm die Aktivität renalen Kallikreins im Urin, wie durch einige Proben bestätigt, selbst nach mehrmaligem Auftauen über einen Zeitraum von etwa 1 Jahr nicht meßbar ab, wie auch von Stoffel durch methodische Untersuchungen bestätigt (59). Diese Fehler, die sich damit aus den teils erheblichen Qualitätsschwankungen des Reinkallikreins für die Umrechnung von der Extinktion auf das Urinkallikrein ergeben würden, hätten eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Serien zumindest beeinträchtigt, wenn nicht gar unmöglich gemacht. Deshalb hielten wir es bei der Konstanz der Aktivität des renalen Kallikreins im Urin für richtiger, entgegen üblicher Praxis in vergleichbaren Verfahren, nicht den Umrechnungsfaktor aus der jeweiligen Eichkurve für die jeweilige Serie getrennt zu ermitteln, sondern für alle Serien einen Umrechnungsfaktor zu bestimmen. Wir entschieden uns dabei für die Eichkurven mit den höchsten Steigungen.

Der Umrechnungsfaktor ergab sich damit zu:

1 KE/ml entspricht einer Extinktion von 1,500

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, verlaufen die Eichkurven bis zur Enzymkonzentration von ungefähr 0,05 KE/ml linear.

IV. Reagenzien

Sämtliche Reagenzien wurden zu jeder neuen Meßserie neu angesetzt.

Reinkallikrein

Die Reinheitsgrade der verwendeten Reinkallikreine betrugen im einzelnen:

1030 KE/mg (mit Lactosezusatz zur Konservierung)

1180 KE/mg (am häufigsten verwendet)

1370 KE/mg

und 1374 KE/mg

EICKURVEN

Zu Abb. 1 (Reinkallikrein 1180 KE/mg); Verlauf 0,059 bis 1,18 KE pro Ansatz.

Meßwerte:	KE pro Ansatz	Extinktion
	0,059	0,054
	0,118	0,142
	0,295	0,441
	0,590	0,819
	1,180	1,92

Zu Abb. 1a (Reinkallikrein 1180 KE/mg); Verlauf bis
0,059 KE pro Ansatz

Meßwerte:	KE pro Ansatz	Extinktion

	0,007	0,011
	0,014	0,019
	0,029	0,044
	0,059	0,082

Zu Abb. 1b (Reinkallikrein 1030 KE/mg mit Lactosezusatz);
Verlauf bis 0,257 KE pro Ansatz

Meßwerte:	KE pro Ansatz	Extinktion

	0,016	0,020
	0,032	0,036
	0,064	0,092
	0,128	0,189
	0,257	0,352

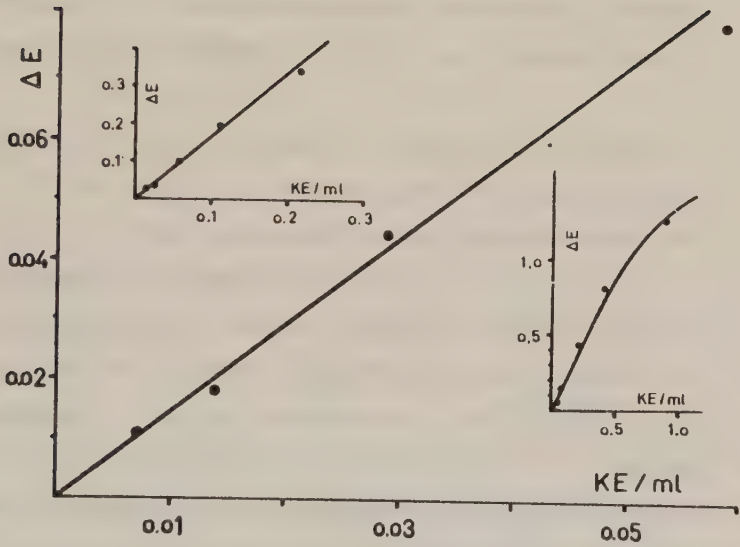


Abb. 1

Eichkurven: E in Abhängigkeit von der Kallikreinkonzentration.

Meßbereiche bis 0,05 KE/ml , bis 0,3 KE/ml und bis 1,0 KE/ml .

Sofort aufgenommene Eichkurven vom Enzym derselben Ampullen unterschieden sich praktisch nicht. Verschiedene Ampullen zeigten jedoch bis etwa 10 % große Aktivitätsunterschiede. Fehler beim Abwiegen dürften als Ursache für Abweichungen dieser Größenordnung keine entscheidende Rolle spielen.

Bezüglich der Haltbarkeit konnten die Herstellerangaben (25) nicht bestätigt werden.

Die Festsubstanz, die bei trockener Lagerung in der Tiefkühltruhe (-15 Grad C) praktisch unbegrenzt haltbar sein sollte, zeigte in unseren Fällen bei Aufbewahrung in verschlossenen Eppendorff Plastik-Küvetten bei -18 Grad C nach etwa 8 Wochen Aktivitätseinbußen bis zu 20 % des Ausgangswertes.

Die Aufbewahrung von Stammlösungen mit Konzentrationen größer als 100 KE/ml und mit Tris-HCl-Puffer auf pH zwischen 6,0 und 7,5 eingestellt bei -18 Grad C erwies sich auch nicht als günstiger. Nach 5-8 Wochen war die Kallikreinaktivität in ähnlicher Größenordnung reduziert wie oben. Nach etwa 1 Jahr waren in den ungünstigsten Fällen noch ca. 20 % Restaktivität vorhanden.

Die Festsubstanz im Kühlschrank bei +4 Grad C aufzubewahren, wofür eine Haltbarkeit von mindestens 1 Jahr angegeben ist, wurde nicht versucht.

Da vom Hersteller nur Ampullen zu 10 mg angeboten werden, pro Meßserie für Eichkurven aber nur etwa 1 bis 2 mg verbraucht werden, kann aus Kostengründen auf die Aufbewahrung

nicht verzichtet werden. Als geeignete Aufbewahrungsmethode erscheint bisher nur die Festsubstanz im Exsikkator in der Tiefkühltruhe (mind. -15°C) zu lagern. Nach 3 sowie nach 5 Wochen waren dabei noch keine Aktivitätsminderungen feststellbar.

Substrat

Das Substrat S-2266, H-D-Valyl-L-Lencyl-L-Arginin-p-Nitro-anilid, MW 579,6, Hersteller AB Kabi Diagnostics, ist in Portionen von 25 mg erhältlich und wurde in 28,8 ml destilliertem, sterilen Wasser gelöst. Diese 1,5 milimolare Lösung ist bei $+2$ bis $+8^{\circ}\text{C}$ nach Angabe des Herstellers 2 Monate stabil.

Verschiedene Chargen des Substrats ergaben bei Stichprobenuntersuchungen keine unterschiedlichen Ergebnisse. Zwischen den Meßserien wurden Reste der Substrallösung in kleinen Portionen bei -18°C eingefroren. In Zeiträumen von etwa 5 Wochen ergaben sich dabei im Vergleich zur frischen Lösung keine meßbaren Differenzen. Im Fall längerer Meßintervalle wurden frische Lösungen angesetzt. Die Spontanhydrolyse des Substrates wurde durch Stehenlassen einer Lösung (Konz. 10^{-4} Mol/l, pH 8,2) bei Inkubationstemperatur (37°C) untersucht.

Die Extinktionszunahme betrug bei 2 h etwa 0,004, bei 4 h 0,010 und bei 8 h 0,018. Die nicht enzymatische Hydrolyse entspräche demnach bei 30 min. Inkubation einer Zunahme um etwa 0,001 und kann vernachlässigt werden.

Puffer

Verwendet wurde Tris-Puffer, 0,2-molar zur Bestimmung von Kallikrein im Urin, und 0,05-molar zur Bestimmung in wässriger Lösung (Eichkurve).

Die Pufferlösung wurde in beiden Fällen mit 1-molarer Salzsäure auf einen pH-Wert von 8,2 (bei Raumtemperatur) titriert. Für die im Urinansatz erforderliche höhere Pufferkapazität war 0,2 Mol/L ausreichend. Das bei einigen Probeansätzen gemessene pH lag bei $8,2 \pm 0,1$. Die Kallikreinaktivität war bei pH-Änderungen in diesem Bereich nicht meßbar verändert (59).

^R Aprotinin (Trasylol)

Trasylol ist ein natürlicher, aus Rinderlunge gewonnener Proteinaseninhibitor. Durch Zugabe von 10 K/E pro Ansatz (1,0 ml) wurde die Kallikreinaktivität im Urin ebenso wie jene des Reinkallikreins in wässriger Lösung zuverlässig gehemmt.

Essigsäure

Die Reaktion in wässriger Lösung wurde durch 0,1 ml 1-molarer Essigsäure gestoppt. Bei dem damit erreichten pH von etwa 4 war keine Enzymaktivität mehr meßbar. Bei Einsatz von 0,4 ml Urin und 0,6 ml 0,2-molarem Tris-Puffer (Messung im Urin) reichte das Ansäuern mit 0,1-molarer Essigsäure nicht aus. Mit einer Konzentration von 4 Mol/l war wiederum ein pH von etwa 4 erreicht. Geringfügige Abweichungen von pH 4 führten nicht zu Extinktionsänderungen des pNA.

V. Analytische Parameter

- Die Ungenauigkeit wird bei Bestimmung im Urin auf etwa 10 % geschätzt (5) und ist etwas größer als in wässriger Lösung, weil hier die Eigenfärbung des Urins stören kann.
- Die Nachweisgrenze, ebenfalls bezogen auf die Kallikreinaktivität im Urin, beträgt mit dieser Methode ca. 0,003 KE/ml Urin.
- Die Empfindlichkeit, bezogen auf die pro Volumeneinheit des Urins vorhandene Aktivität, errechnet sich unter Berücksichtigung des unter C. III. gesagten als eine Extinktionsänderung von 1,5 pro KE/ml Urin. Als Umrechnungsfaktor für die im Urin gemessene Extinktion auf die Kallikreinaktivität ergibt sich damit (weil nur 0,4 ml Urin im Ansatz enthalten sind):

$$\frac{2,5}{1,5} = \frac{\Delta E}{1,66}$$

D S T A T I S T I K

Zur mathematischen Auswertung der Ergebnisse wurden mit einer Ausnahme (Altersstufe 5 Tage gesondert angegeben) sämtliche Probandenurine in die Betrachtungen mit einbezogen. Die Ergebnisse wurden, sofern nicht anders angegeben, als Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes ($MW \pm S.E.M.$) aufgetragen.

Für die Untersuchungen der Neugeborenen und Kleinkinder wurden die Verteilungen sämtlicher Parameter im Chi-Square-Test überprüft. Für die Größen Blutdruck und Körpergewicht kann man dabei von einer Normalverteilung ausgehen.

Die Parameter Kallikreinausscheidung/ml Urin, Kallikreinausscheidung/mg Kreatinin, Natrium und Kalium wiesen den für Laborparameter in biologischen Flüssigkeiten typischen, zur Ordinate hin steilen Verlauf auf. Unter verschiedenen Transformationen zeigte diejenige mit $\ln x$ erwartungsgemäß die beste Annäherung an die Normalverteilung, ergab aber bereits einen linksschrägen Verlauf (als Beispiel Abb. 2).

Sämtliche Korrelationen wurden auch transformiert gerechnet. Das Ergebnis (Korrelationskoeffizient r) änderte sich dabei um max. 0.03 im Sinne eines höheren Korrelationskoeffizienten.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde deshalb auf die Angabe mit transformierten Werten verzichtet.

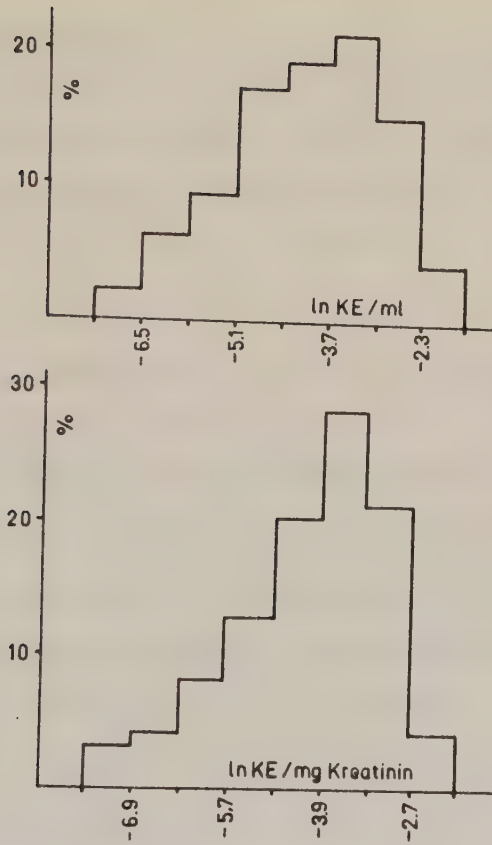


Abb. 2

Verteilung der Parameter KE/ml Urin und KE/mg Kreatinin nach Transformation mit $\ln x$.

Um Unterschiede hinsichtlich Ihrer Signifikanz zu testen, kam bei $n > 30$ und etwa normalverteilter Grundgesamtheit, insbesondere, wenn die Kontrollgröße vom selben Probanden stammte, der Student's-t-Test, in den anderen Fällen der Wilcoxon signed paired- oder unpaired rank Test zur Anwendung.

Als Signifikant wurde $p < 0.05$ betrachtet.

Die einfachen linearen Regressionen wurden an der Rechenanlage der Med. Klinik Innenstadt der Univ. durchgeführt. Die multiplen Regressionen wurden am Institut für Biomathematik und Statistik (Prof. K. Überla) im Klinikum Großhadern durchgeführt. Anlage: Siemens 7.760, System BMDP - 1 R adaptiert für Siemens im MEDIS-Inst. der GSF von M. Sund und D. Salomon.

E R G E B N I S S E

K A L L I K R E I N I M U R I N V O N S Ä U G L I N G E N U N D K L E I N K I N D E R N

I. P r o b a n d e n a u s w a h l - U n t e r s u c h u n g s i n t e r v a l l e

Untersucht wurden insgesamt 460 Urine von 262 männlichen und 198 weiblichen Säuglingen, die in der I. Frauenklinik der Universität München geboren wurden, im Alter von 3 und 5 Tagen, entsprechend einem maximalen Altersintervall von 49-72 bzw. 97-120 Stunden sowie bei Kleinkindern im Alter von 1, 2 und 3 Jahren. Das Einverständnis der Mütter wurde am 2. Tag post partum nach Aufklärung über Ablauf und Ziel der Studie eingeholt.

Das Alter von 3 Tagen wurde gewählt, weil es hier i.d.R. erstmals möglich war, eine ausreichende Urinmenge für die Untersuchung zu erhalten, das von 5 Tagen, weil dieses Datum im Normalfall mit dem Tag der Entlassung aus der Klinik zusammenfiel und den Abschluß eines relativ gut kontrollierten Zeitraums markierte, in dem sich wesentliche physiologische Veränderungen aus der Anpassung an das extrauterine Dasein vollziehen.

In das Kollektiv aufgenommen wurden nur gesunde Kinder mit einem Gestationsalter von mindestens 37 Wochen, einem Geburtsgewicht von mindestens 2500 g sowie einem Apgar-Score

größer als 8. Krankheitszeichen im Laufe der ersten Lebens-
tage und Erkrankungen in der Anamnese der Mutter, wie Hyper-
thyreose, Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Glomerulo- und
Pyelonephritiden oder urologische Fehlbildungen führten zum
Ausschluß. Um durch eventuelle Einflüsse ethnischer oder
genetischer Unterschiede spätere Interpretationsschwierig-
keiten zu vermeiden, wurden nur Kinder deutscher Eltern un-
tersucht. Ein weiterer Grund für die Aufnahme nur deutsch-
stämmiger Kinder war die vermutete größere Mobilität auslän-
discher Familien, die geplante Nachfolgeuntersuchungen be-
hindert hätten. Die Urinproben aus verschiedenen langen, nicht
genau definierten Sammelperioden, wurden mit Klebebeutel n
zu unterschiedlichen Vormittags- und Nachmittagszeiten ge-
wonnen, bis zur Ankunft im Labor bei +4 Grad C aufbewahrt
(max. 10 Stunden), anschließend ohne weitere Behandlung bei
-18 Grad C eingefroren und bis zur Messung in dieser Form
gelagert. Zur Bestimmung des Kallikreins und der Vergleichs-
parameter wurden die Proben im lauwarmen Wasserbad langsam
aufgetaut.

II. Bestimmung der Parameter Natrium, Kalium und Blutdruck

Die Bestimmung der Elektrolyte Natrium und Kalium erfolgte
mit dem Flammenspektrophotometer, die des Kreatinins mit der
üblichen im Routinebetrieb angewandten Methode nach Jaffé.
Zur Messung des Blutdruckes kam die unter indirekten Meß-
methoden als genaueste angesehene Ultraschall-Doppler-Methode

zur Anwendung (Gerät Arteriosonde 1020, Roche Medical Electronics). Da Neugeborene am 3. und 5. Tag noch keine zirkadiane Rhythmik entwickelt haben, aber in ihrem Blutdruckverhalten auf Änderungen in ihrer Umgebung mit großen Unterschieden reagieren, mußte hier 2 mal am Tag gemessen werden.

Die Messung erfolgte jeweils nach einigen Minuten ruhigen Sitzens oder Liegens, mindestens 1/2 Stunde, normalerweise aber 1 bis 2 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme (53). Der Mittelwert von 3 im Abstand von einigen Minuten gemessenen Druckwerten wurde als repräsentativ betrachtet. Die jeweils 2 Untersucher kontrollierten ihre Ergebnisse in regelmäßigen Abständen durch Doppeluntersuchungen. Urinsammlung und Blutdruckmessung bei 1/2-, 1-, 2- und 3-jährigen in häuslicher Umgebung.

III. Eigene Ergebnisse

1. Querschnittbetrachtung; Verlauf - Mittelwerte

1.1 Gesamtkollektiv

Kallikrein/ml Urin

Die Kallikreinkonzentration im Urin wies zwischen dem 3. und 5. Tag praktisch keine Unterschiede auf. Im 6. Monat sowie im 1. und 2. Lebensjahr waren die Kallikreinkonzentrationen, verglichen mit den jeweiligen Vordaten, höher (p jeweils

$< 0,002$). Im 3. Lebensjahr imponiert ein Abfall des Mittelwertes gegenüber dem 2. Lebensjahr, der jedoch statistisch nicht signifikant war (Abb. 3).

Eine Quantifizierung der Kallikreinausscheidung wurde über den Bezug der Kallikreinkonzentration auf die Kreatinin-konzentration der gleichen Urinprobe versucht:

Der Quotient Kallikrein/Kreatinin (KE/mg) nimmt bis zum 2. Lebensjahr von jeder Altersstufe zur nächsten zu (für 3. zum 5. Tag: $p < 0,01$; 6 Monate zu 1 Jahr: $p < 0,001$; 1 Jahr zu 2 Jahre: $p < 0,01$) und fällt zum 3. Jahr leicht ab (statistisch nicht signifikant) (Abb. 4).

Kreatinin

Die Kreatinin-Konzentration im Urin am 5. Tag betrug etwa die Hälfte derjenigen des 3. Tages ($p < 0,001$). Im Intervall zum 6. Monat Anstieg um ca. 40 % ($p < 0,01$). Im 1. und 2. Lebensjahr war die Kreatininkonzentration verglichen mit dem jeweils vorhergehenden Untersuchungszeitpunkt, numerisch größer, der Unterschied erreichte aber nicht Signifikanzniveau. Im 3. Lebensjahr gegenüber dem 2. Lebensjahr Anstieg um ca. 30 % (Abb. 6) ($p < 0,001$).

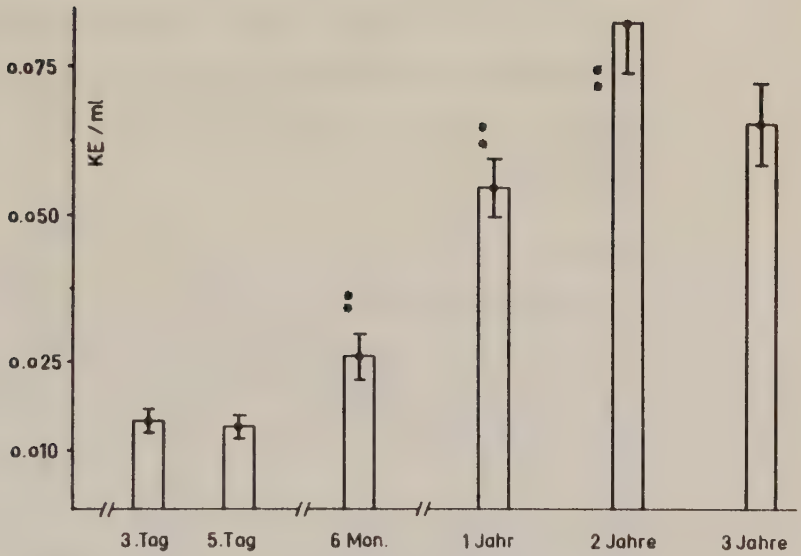


Abb. 3

Urin-Kallikreinkonzentration in den Altersstufen 3. Tag bis 3 Jahre.

⁺
Natrium (Na)

Die Natriumausscheidung war am 3. und 5. Tag ähnlich gering. Im 6. Monat Anstieg auf das 5- bis 6-fache der vorhergehenden Werte ($p < 0,001$). Im 1. und 2. Lebensjahr jeweils statistisch nicht signifikanter Anstieg. Im 3. Lebensjahr Anstieg auf nahezu den doppelten Wert des 2. Lebensjahres ($p < 0,001$) (Tab. 1, Abb. 5).

⁺
Kalium (K)

Die Kaliumausscheidung des 3. zu der des 5. Tages verhielt sich wie etwa 2:1 ($p < 0,001$). Im 6. Monat erhöhte sie sich auf etwa das 8-fache und blieb dann bis zum 3. Lebensjahr nahezu konstant (Abb. 5).

Blutdruck und Gewicht

Der systolische Blutdruck nahm in allen betrachteten Altersintervallen zu. Die Zunahme vom 2. zum 3. Lebensjahr war jedoch nicht signifikant.

Der diastolische Blutdruck war am 3. und 5. Tag etwa gleich, nahm dann in allen Altersstufen zu, wobei die Zunahme im 3. Lebensjahr nicht signifikant wurde. Auch das Gewicht war am 3. und 5. Tag etwa gleich und nahm dann erwartungsgemäß zu ($p < 0,001$) (Abb. 8 und 10; Tab. 1).

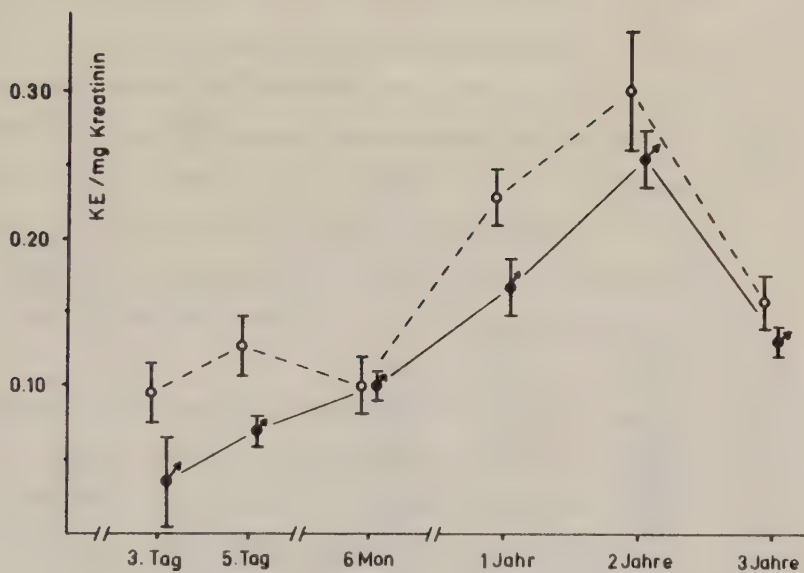


Abb. 4

Kallikreinausscheidung pro mg Kreatinin nach männlichen und weiblichen Probanden getrennt vom 3. Tag bis 3. Lebensjahr

1.2 Unterschiede zwischen männlichem und weiblichem

Kollektiv

Die Kallikreinausscheidung pro ml lag am 3. und 5. Tag bei Mädchen höher als bei Buben (am 3. Tag signifikant $p < 0,05$) (Tab. 2), die Kreatininausscheidung dagegen stets niedriger als bei Buben, wobei die Unterschiede jedoch nicht signifikant waren. Der Quotient Kallikrein zu Kreatinin (KE/mg Kreatinin) war mit Ausnahme des 6. Monats, an dem beide Werte identisch waren, stets bei Mädchen größer, wobei der Unterschied zu den Buben mit zunehmendem Alter geringer wurde (signifikant am 3. Tag, $p < 0,001$ und am 5. Tag, $p < 0,05$) (Abb. 4).

Die im 3. Jahr bei Mädchen deutlich geringere Natriumausscheidung erreichte ebenfalls keine Signifikanz.

Die Kaliumausscheidung war bei Jungen in allen Fällen höher als bei Mädchen, der Unterschied war aber nur am 3. Tag signifikant ($p < 0,05$) (Tab. 2; Abb. 7).

Im Verhalten des systolischen Blutdruckes zeigten sich keine Unterschiede zwischen Mädchen und Buben, der diastolische Blutdruck war mit Ausnahme des 3. und 5. Tages, an denen er bei Jungen höher war, bei Mädchen numerisch höher (keine Signifikanz) (Tab. 3; Abb. 9).

Mädchen hatten in allen Altersstufen ein geringeres Gewicht (zwischen 7 und 10 %). Diese Gewichts Differenz erreichte im 3. Jahr fast Signifikanzniveau (Tab. 3; Abb. 10).

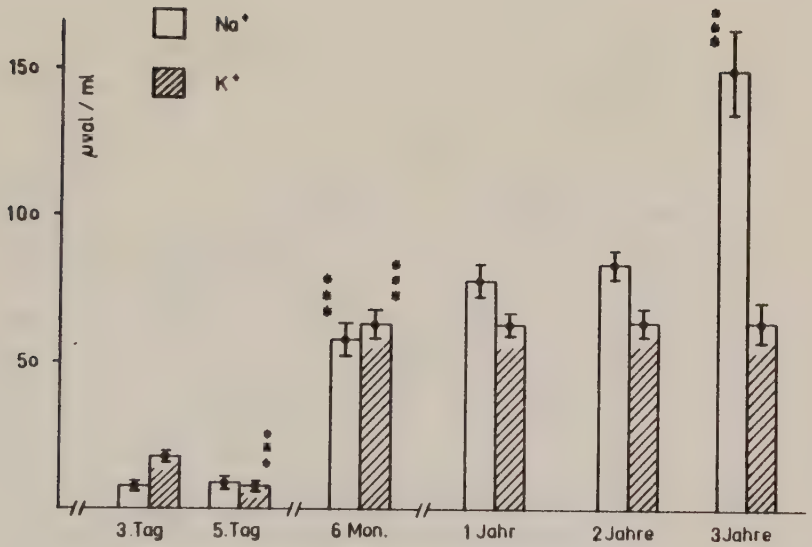


Abb. 5

+ +
Na - und K -Konzentration im Urin in verschiedenen Alters-
stufen vom 3. Tag bis zum 3. Lebensjahr.

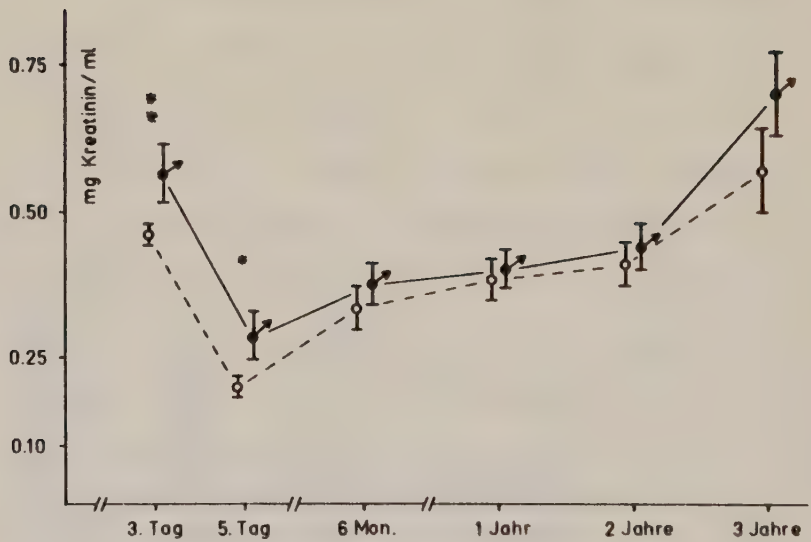


Abb. 6

Urin-Kreatininkonzentration

(männliche und weibliche Individuen getrennt) in verschiedenen Altersstufen vom 3. Tag bis zum 3. Lebensjahr.

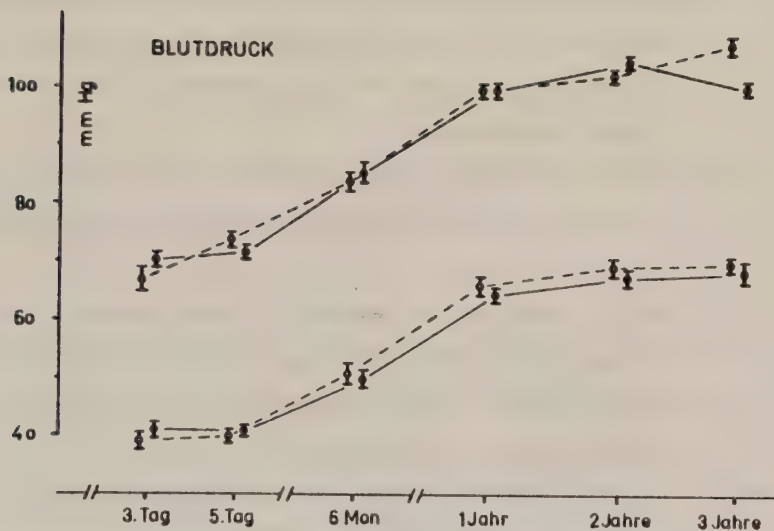


Abb. 7

Systolischer und diastolischer Blutdruck

(männliche und weibliche Individuen getrennt) in verschiedenen Lebensaltern vom 3. Tag bis zum 3. Lebensjahr.

• = männlich

o = weiblich

2. Regressionsanalysen

2.1 Korrelationen (einfach linear)

Die Korrelationen für die Kallikreinausscheidung pro ml in Bezug auf die Kreatinin- und Kalium-Ausscheidung pro ml sind in Tabelle 4 für die Altersstufen 1 Jahr, 2 Jahre und 3 Jahre wiedergegeben.

Die meisten Signifikanzen ergaben sich im 2. Lebensjahr. So korrelierte die Kallikreinkonzentration im Gesamtkollektiv und im männlichen Teilkollektiv (jeweils $p < 0,001$), nicht jedoch im weiblichen, mit der K^+ -konzentration im Urin. Eine in ähnlicher Weise verlaufende, aber schwächere Korrelation zeigte sich im selben Zeitraum zur Kreatininausscheidung ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,05$).

Im 1. Lebensjahr korrelierte die Kreatininkonzentration des Gesamtkollektivs mit der Urinkallikreinkonzentration ($p < 0,05$).

Der selbe Sachverhalt war auch beim weiblichen Teilkollektiv ($p < 0,05$), nicht aber beim männlichen erkennbar. Eine Korrelation mit der Kaliumausscheidung bestand hier nur beim weiblichen Teilkollektiv ($p < 0,05$).

Im 3. Lebensjahr korrelierte beim männlichen Teilkollektiv die Kreatininausscheidung mit dem Urinkallikrein.

Allerdings zeigte sich hier beim weiblichen Kollektiv eine schwach negative Korrelation ($p < 0,05$).

Bezogen auf die Ausscheidung von Natrium⁺ im Urin ergab sich für das weibliche Teilkollektiv im 2. Lebensjahr eine negative Korrelation zur Kallikreinausscheidung ($r = -0,662$, $p < 0,005$). Innerhalb der Gesamtkollektive des 2. und 3. Lebensjahres erreicht dieser Korrelationskoeffizient die Werte

$$= -0,144 \quad \text{und}$$

$$= -0,243$$

und damit unter Berücksichtigung der Anzahl der Urinproben allerdings nicht Signifikanzniveau.

In früheren Altersstufen korrelierte nur am 3. Tag im männlichen Teilkollektiv die Kreatininausscheidung mit der des Kallikreins ($p < 0,05$). Für die anderen Vergleichsparameter (Blutdruck systolisch und diastolisch und Gewicht) ergaben sich in allen Altersstufen keine signifikanten Korrelationen. Um eventuelle Unterschiede im Verhältnis Blutdruck zu Kallikreinausscheidung an den Randbereichen der Kollektive aufzudecken, wurde die Kallikeinkonzentration bzw. KE/Kreatinin in der höchsten- und niedrigsten Perzentile der RR-Verteilung (systolisch und diastolisch) geprüft. Die Kallikreinkonzentration und KE/Kreatinin in der oberen RR-Perzentile war dabei nicht signifikant different zur Kallikreinausscheidung in der unteren Perzentile. Umgekehrt wurden die RR-Werte (systolisch und diastolisch) in der höchsten und niedrigsten Perzentile der Kallikreinkonzentration und KE/Kreatinin verglichen, was ebenfalls zu keinen signifi-

kanten Unterschieden führte. (Die Auswahl nach den oben angegebenen Parametern erfolgte in den Altersstufen 1, 2 und 3 Jahre an jeweils 20, 20 bzw. 10 Probandenurinen).

Längsschnittbetrachtung (lineare Korrelation).

Hier wurden in jedem der Zeitintervalle immer jene Probanden untersucht, von denen Nachfolgeurine des nächsten Betrachtungszeitpunktes vorhanden waren und die Kallikreinkonzentration gegeneinander korreliert. Signifikant war dabei nur der Vergleich der Einjahresurine mit denen des 2. Lebensjahres ($r = 0,337$; $p < 0,001$).

Dieselbe Betrachtung für den Quotient Kallikrein/mg Kreatinin ergab keine Korrelationen im Vergleich aller benachbarten Meßzeitpunkte.

Um eine eventuelle lineare Abhängigkeit der beiden Termini "KE/ml Urin" und "KE/mg Kreatinin" exemplarisch zu prüfen, wurden diese Größen für das 2. Lebensjahr gegeneinander korreliert.

Ergebnis: $r = 0,582$, $p < 0,0001$ (Abb. 6).

2.2 Multiple lineare Regression

Kallikrein/ml Urin als Zielvariable

Um eventuelle Zusammenhänge, die in der einfachen linearen Regression durch Störgrößen verdeckt werden könnten, dennoch zu erkennen, wurde exemplarisch für die Studie eine multiple lineare Regressionsanalyse für die Altersstufen 1 und 2 Jahre durchgeführt.

Bei 1 Jahr alten Kindern korrelierte die Kallikreinausscheidung nur mit der Ausscheidung an Kreatinin

($r = 0,251$, $p = 0,024$) (Tab. 7).

Nach Aufteilung in männlich und weiblich ergab sich nur bei weiblichen Probanden eine Korrelation wiederum mit dem Kreatinin ($r = 0,368$, $p = 0,028$).

Im Alter von 2 Jahren korrelierte die Kallikreinausscheidung mit der Ausscheidung an Kreatinin und Natrium im Gesamtkollektiv und nach Aufteilung in männliches und weibliches Teilkollektiv signifikant. Die Kaliumausscheidung derselben Altersstufe korrelierte mit der Kallikreinausscheidung nur im Gesamtkollektiv und im männlichen Teilkollektiv (Tab. 7).

Kallikrein pro mg Kreatinin als Zielvariable:

Für den Quotienten Kallikrein/mg Kreatinin ergab sich nur bei 2-Jahres-Urien, hier aber sowohl im Gesamtkollektiv als auch in den beiden Teilkollektiven, eine inverse Korrelation zur Natriumausscheidung.

Gesamt	männliches Kollektiv	weibliches Kollektiv
$r = -0,420$	$r = -0,417$	$r = -0,404$
$p = 0,001$	$p = 0,003$	$p = 0,004$

Aus den beiden Korrelationsmatrices ergaben sich außerdem noch einige Interdependenzen für eine Reihe von Vergleichsgrößen.

Auffällig sind die Korrelationen im Block Kallikrein, Kreatinin, Natrium und Kalium, der in unseren betrachteten Altersstufen offensichtlich keinem Einfluß durch die übrigen Vergleichsparameter Blutdruck systolisch und diastolisch sowie Gewicht unterliegt.

Erwartungsgemäss korrelieren RR systolisch und RR diastolisch ($r = 0,504$ bzw. $r = 0,446$ bei 1 bzw. 2 Jahren). Wie aus dem Verlauf (Abb. 10) ersichtlich, sind die Gewichte von Jungen und Mädchen systematisch verschieden in allen Altersstufen.

Nennenswert erscheint auch noch die Korrelation zwischen RR systolisch und dem Körpergewicht ($r = 0,212$ bzw. $r = 0,202$ bei 1 bzw. 2 Jahren).

Die in linearer Regressionsanalyse bereits verglichenen Termini Kallikreinausscheidung pro ml Urin mit dem Quotient Kallikreinausscheidung pro mg Kreatinin korrelieren wiederum.

(Lineare Korrelationskoeffizienten $r = 0,676$ und $r = 0,590$ für 1 bzw. 2 Jahre).

F AUSSCHEIDUNG VON KALLIKREIN
BEI ESSENTIELLER HYPERTONIE
ERWACHSENER

I. Probanden-Kriterien

In dieser Untersuchungsserie wurden insgesamt 21 Probanden der Abteilung Innere Medizin der Univ. Klinik Innsbruck untersucht. Es handelt sich dabei um 10 männliche Normotoniker und 11 Personen mit essentieller Hypertonie, 4 weibliche und 7 männliche im Alter von 22 bis 35 Jahren, die bezüglich ihrer Ausscheidung von renalem Kallikrein unter verschiedener Kochsalz- und Kaliumzufuhr verglichen wurden.

Als Kriterium für "Hypertonus" galt entweder ein systolischer Blutdruck von mehr als 160 mmHg, ein diastolischer Blutdruck von mindestens 95 mmHg oder beides. Die angegebenen Druckwerte wurden im Beobachtungszeitraum bei den Hypertonikern nicht unterschritten.

Sämtliche Probanden nahmen im Untersuchungszeitraum keine Medikamente ein. Insbesondere ist bei den Hypertonikern eine Behandlung des Hypertonus entweder noch nicht begonnen oder aber für mindestens 14 Tage vor dem Beobachtungszeitraum und während derselben unterbrochen worden. Eine eventuelle diuretische Behandlung war mindestens 4 Wochen vor der Studie abgesetzt worden. Eine Gruppe der Probanden, 5 Normotoniker und 6 mit essentieller Hypertonie reagierten auf die Salz-

restriktion mit einer Senkung des systolischen und/oder diastolischen Blutdruckes um mindestens 5 mmHg. Demzufolge wurde diese Marge als Kriterium für die Unterteilung der Kollektive als salzsensitive und nicht-sensitive herangezogen.

Die mit natriumreich in den Tabellen angegebene Normalkost entsprach bezüglich ihres Salzgehaltes dem in wesentlichen Zivilisationen üblichen Standard von etwa 200 mmol pro Tag (bei etwa 80 mval Kalium). In der unter natriumarm angeführten Diät wurde der Salzgehalt auf 50 mmol/Tag reduziert und die Kaliumaufnahme auf 200 mval erhöht. Der geringe Salzgehalt war durch ausschließliche Verwendung von Nahrungsmitteln ohne Salzzusätze sowie durch deren Zubereitung ohne Salz erreicht worden.

Die Erhöhung der Kaliumaufnahme geschah durch einen höheren Anteil an Obst und Gemüse, durch Verwendung handelsüblichen Kochsalzersatzes, der eine Mischung von Kaliumsalzen, hauptsächlich Kaliumchlorid, enthält (Sina-Salz, Nordmark-Werke, Hamburg) sowie durch tägliche Einnahme einer Tablette Kalinor (Nordmark-Werke), die 40 mmol Kalium enthält. Der Kaloriengehalt der Kost wurde beibehalten und jede der Diäten wurde für mindestens 1 Woche verabreicht. Die Reihenfolge, in denen die Testdiäten verabreicht wurden, war randomisiert.

In allen Fällen war nach höchstens 5 Tagen eine Konstanz der Natrium- und Kaliumausscheidung eingetreten.

Zur quantitativen Bestimmung des Kallikreins wurde in allen Fällen Urin einer 24-stündigen Sammelperiode verwendet. Die weitere Behandlung der Urinproben erfolgte wie unter C.I. angegeben. Die Messung des Kallikreins wurde wiederum mit Hilfe des chromogenen Substrates S-2266 wie in Teil C der Arbeit beschrieben, durchgeführt.

II. Ergebnisse

1. Basalausscheidung Kallikrein

Die basale Ausscheidung an Kallikrein unter Normalkost (natriumreich) ergab für die Salzsensitiven unter den E.H. sowohl als KE/24 h, als auch als KE/ml Urin, einen numerisch geringeren Wert als für nicht Kochsalzsensitive E.H. Unter Natrium-Entzug (natriumarm) blieb die Größenordnung dieser Minderausscheidung in etwa erhalten (nicht signifikant, siehe Tab. 8). Etwa gleich waren in allen Kollektiven die Urinvolumina pro 24 Stunden und zwar sowohl unter Normalkost als auch unter natriumarmer Diät und nach Unterscheidung in Salzsensitive und Nichtsensitive.

2. Kallikreinausscheidung nach Veränderung der Kochsalz-zufuhr

Unter natriumarmer und kaliumreicher Kost erhöhte sich bei allen Probanden die Kallikreinausscheidung pro 24 Stunden deutlich (jeweils $p < 0,0001$). Der Mittelwert an KE/24 Std. stieg bei NP etwa um den Faktor 3, bei EH um den Faktor 2 an (Tab. 8). Nach Unterscheidung in Salzsensitive und nicht Salzsensitive blieb das Ergebnis im wesentlichen dasselbe, wobei aber die Anstiegsunterschiede zwischen salzsensitiven und nichtsensitiven EH noch deutlicher und auf dem 95 %-Niveau signifikant wurde. Bemerkenswert ist, daß unter den EH 4 Probanden auf Reduktion der Natriumzufuhr mit einer Verminderung der Kallikreinausscheidung reagierten (Abb. 12). Nach Elimination dieser 4 Probanden, 2 Salzsensitive und 2 Nichtsensitive aus dem Kollektiv der essentiellen Hypertoniker ergab sich für das Restkollektiv ein Mittelwert der Kallikreinausscheidung von $62,3 \text{ KE/24 h} \pm 39,7$ bei Normalkost und $140,9 \text{ KE/24 h} \pm 28,0$ bei Natriumreduktion.

3. Kalium-, Natrium- und Kreatininausscheidung

Die Kaliumausscheidung unter normaler Natriumaufnahme zeigte zwischen NP und EH, auch nach Unterscheidung in Salzsensitive und Nichtsensitive, keine signifikanten Unterschiede.

Bei Natriumreduktion und gleichzeitiger Kaliumsubstitution fand sich die Kaliumausscheidung bei den Normotonikern auf über das Doppelte des Ausgangswertes erhöht ($p < 0,001$), bei den EH lediglich um 20-30 % (nicht signifikant). Die Natriumausscheidung bei normaler Natriumzufuhr war in den Gesamtkollektiven bei NP numerisch etwas größer. Die Verminderung der Natriumaufnahme führte bei den NP zu einer Reduktion der Natriumausscheidung auf etwa $1/5$ des Ausgangswertes, bei EH auf etwa $1/3$ des Ausgangswertes (jeweils $p < 0,001$), der unterschiedliche Rückgang der Na-Ausscheidung bei NP und EH war nicht signifikant).

Systematische Unterschiede der Kalium- und Natriumausscheidung nach Aufteilung in Salzsensitive und Nichtsensitive waren nicht erkennbar (Tab. 9).

Die Kreatininausscheidung pro 24 h war bei EH gegenüber NP etwas höher (nicht signifikant). Zwischen den Teilkollektiven waren keine systematischen Unterschiede erkennbar (Tab. 10).

Jene 4 essentiellen Hypertoniker, die auf Natriumreduktion mit einer Verminderung der Kallikreinausscheidung reagierten, wiesen bezüglich ihrer Natrium- und Kreatininausscheidungen, verglichen mit den Restkollektiven, keine Besonderheiten auf. Lediglich die Kaliumausscheidung weist keine deutliche Zunahme auf.

4. Korrelationen

Die Kallikreinausscheidung korrelierte nicht mit der Kalium-, Natrium- und der Kreatininausscheidung, wenn jeweils nur die Teilkollektive betrachtet werden.

Nach Auftragen der Kallikreinausscheidung pro 24 h und des Quotienten KE pro mg Kreatinin bei natriumreicher und natriumarmer Kost gegen die Natrium- und Kaliumausscheidung im Urin (Abb. 12) ergaben sich für das Gesamtkollektiv folgende Korrelationen:

	KE/24 h	KE/mg Kreat.
$\ln \overset{+}{\text{NA}}$	$r = -0,472$ ($p < 0.001$) $n = 56$	$r = -0,413$ ($p < 0.001$) $n = 56$
$\overset{+}{\text{K}}$	$r = 0.531$ ($p < 0.001$) $n = 58$	$r = 0.453$ ($p < 0.001$) $n = 58$

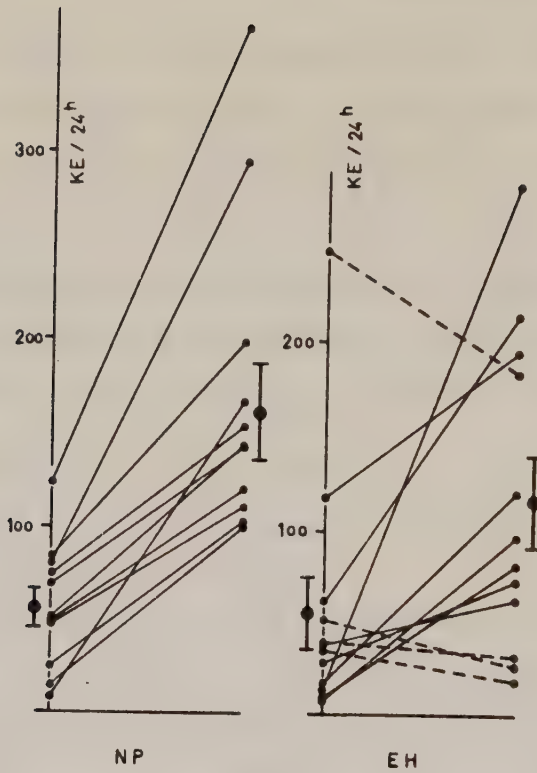


Abb. 8

Kallikreinausscheidung im Urin pro 24 h unter "normaler"-
und verminderter Natriumaufnahme;

Gegenüberstellung 11 normotone Probanden und 12 Hypertoniker.

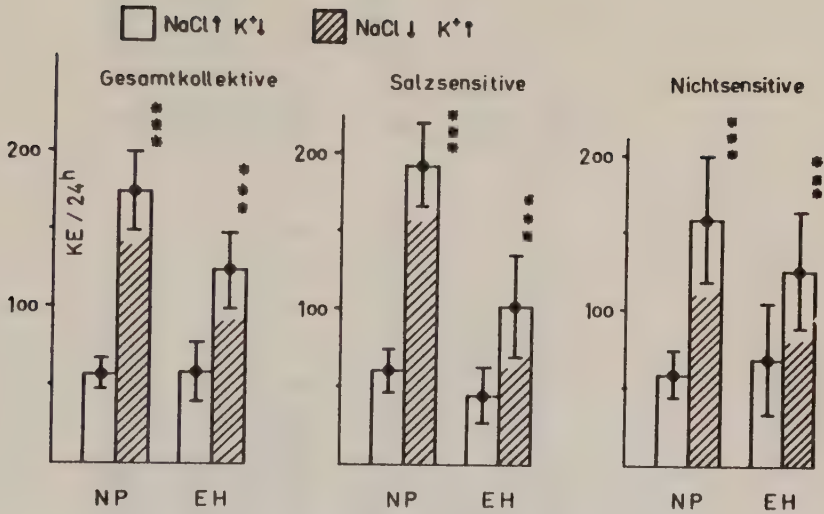


Abb. 9

Kall. Ausscheidung pro 24 h vor- und nach Verminderung der NaCl-Aufnahme bei normotonen Probanden und essentiellen Hypertonikern im Gesamtkollektiv und nach Aufteilung in Salzsensitive und Nichtsensitive.

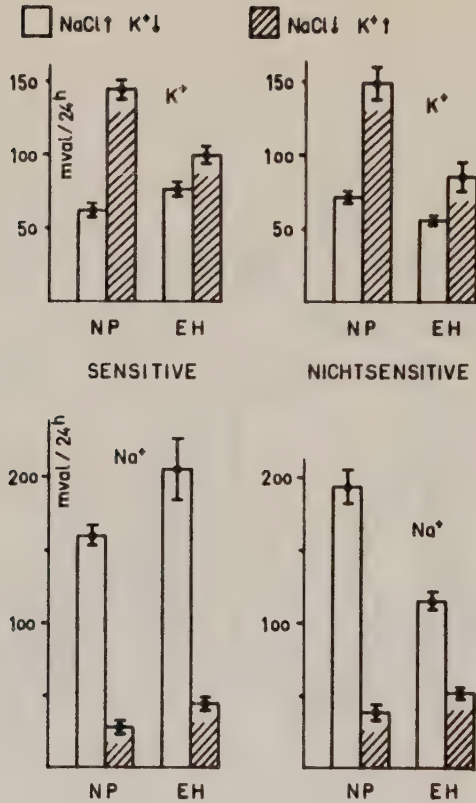


Abb. 10

Ausscheidung an Natrium- und Kaliumionen im Urin nach

"normaler"- und verminderter Natriumaufnahme.

Gesamtkollektiv aufgeteilt in NP (Normotoniker) und EH

(essent. Hypertoniker), bzw. in Salzsensitive und Nicht-sensitive.

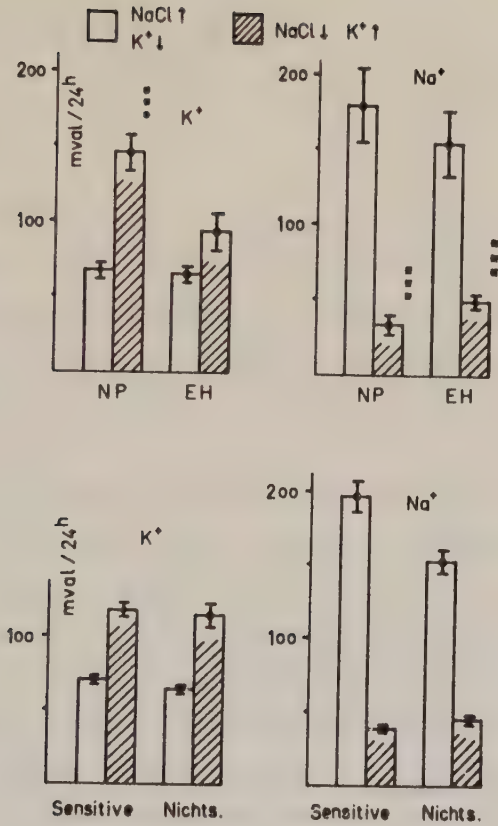


Abb. 11

Ausscheidung an Na⁺ und K⁺ bei NP und EH nach Aufteilung
in Salzsensitive und Nichtsensitive.

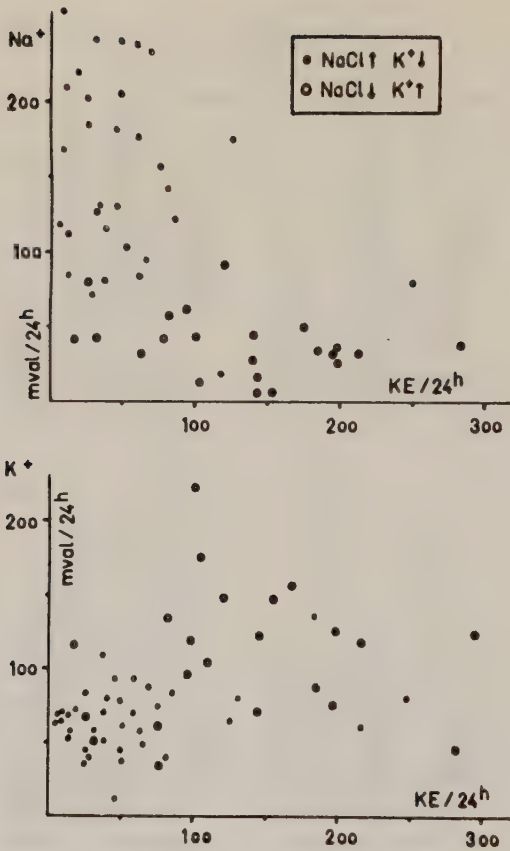


Abb. 12

Ausscheidung von Kallikrein/24 h in Abhängigkeit von der
+ +
Na - bzw. K -Ausscheidung bei "normaler"- und verminderter
Natriumaufnahme.

G D I S K U S S I O N

I. Methodik

Die methodischen Untersuchungen von Amundsen, Geiger et al. Stoffel sowie im Rahmen dieser Studie durchgeführte, orientierende Untersuchungen und die anschließenden Messungen an insgesamt mehr als 500 Urinproben haben gezeigt, daß die Bestimmung von Kallikrein im Urin mit diesem Verfahren gut durchführbar ist.

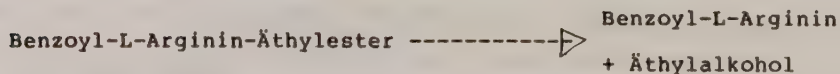
Von hinreichender Genauigkeit der Methode kann im Falle unserer Kollektive vom 1. Lebensjahr an ausgegangen werden. Nicht in gleichem Maße gilt dies für die Säuglingsurine des 3. und 5. Lebensstages und möglicherweise auch des 6. Lebensmonates. Die Forderung, daß die Meßwerte mindestens um den Faktor 10 über der Nachweisgrenze liegen sollten (5), ist hier in vielen Fällen noch nicht erfüllt, was bei der Beurteilung dieser Werte und besonders bei vergleichenden Betrachtungen von Teilkollektiven dieser Altersstufen berücksichtigt werden sollte. Die durchgeführte Umrechnung der Ex-tinktionsänderung bei der Entstehung der pNA auf KE kann, bei Anspruch ausreichender Genauigkeit, u.a. wegen der unterschiedlichen Ergebnisse der Eichkurven nicht als Absolutwert betrachtet werden. Als Absolutwert der Kallikreineinheit nach Frey/Kraut und Werle (16) gilt:

Eine biologische Kallikreineinheit (1 KE) ist diejenige Menge Kallikrein, die bei i.v. Injektion am Carotisdruck des narkotisierten Hundes dieselbe Senkung auslöst, wie 5 ml Harn vom gesunden Menschen aus einer Sammelprobe von mindestens 50 ml, die 24 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert worden war.

Aussagen über die Genauigkeit beziehen sich deshalb nur auf die Relation der einzelnen Messungen zueinander. Vergleiche mit Ergebnissen anderer Untersucher sind allenfalls unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Eichkurven bedingt möglich.

Gleiches gilt für Vergleiche mit Untersuchungen, in denen andere Meßmethoden verwendet wurden.

Über den Vergleich mit anderen Meßmethoden, dem Radioimmunoassay (RIA), und anderen, unspezifischen Esterase-Methoden, wurden keine eigenen Untersuchungen durchgeführt. Die große Anzahl der Probanden und der materielle und zeitliche Aufwand ließen für uns den RIA von vornherein als ungeeignet erscheinen. Die bisher am häufigsten verwendete enzymatische Methode beruht auf der Messung der Spaltungsgeschwindigkeit von Benzoyl-L-Arginin-Äthylester (BAEE) nach der Reaktion:



Diese Methode beruht auf der esterolytischen Wirkung der Kallikreine. Am häufigsten wird die Spaltung gemessen

- durch Messung der Extinktionszunahme bei 253 nm (Extinktionsmaximum des Differenzspektrums von freiem Benzoyl-L-Arginin und seiner Ester)
- durch quantitative Bestimmung des freiwerdenden Äthylalkohols mit Hilfe der Alkoholdehydrogenase. Als Maß dient hier die Zunahme der Extinktion bei 366 nm (Extinktionsmaximum von NADH). Dieses Verfahren ist unter den Esterasemethoden am wenigsten störanfällig (16).

Wie BAEE, aber mit geringerer Geschwindigkeit, werden gespalten N-Benzoyl-L-Arginin-methylester (BAME). (letzterer dominiert in Veröffentlichungen aus den USA). Vergleicht man die Empfindlichkeit der S-2266 mit der BAEE-Hydrolyse, so ist bei Zimmertemperatur die mit BAEE hervorgerufene anfängliche Extinktionsänderung etwa doppelt so groß wie die mit S-2266.

Da aber im Fall des S-2266 eine Endpunktbestimmung nach langer Inkubation (30 min.) erfolgt, ist diese Methode praktisch empfindlicher (5).

Ihr eigentlicher Vorteil liegt aber darin, daß bei 405 nm, einer weniger störanfälligen Wellenlänge gemessen wird. Viele Substanzen in nicht vorgereinigtem biologischem Material absorbieren bei Wellenlängen um 250 nm.

Störmöglichkeiten, die aus der Messung mehrerer Reaktionsprodukte resultieren (Benzoyl-L-Arginin und seine Ester) treten bei Verwendung des chromogenen Substrates nicht auf, weil hier nur ein Reaktionsprodukt (pNA) gemessen wird (kein Differenzspektrum). Die guten Korrelationen der Messung mit S-2266 mit dem Radioimmunoassay und insbesondere mit der Esterasemethode (r um 1,0) sichern, daß in allen Verfahren dasselbe Enzym gemessen wird. Bei einer Enzymmischung wäre eine ähnlich gute Korrelation nur möglich, wenn die einzelnen Enzyme immer in genau gleichen Relationen zueinander ausgeschieden würden (16, 56, 73).

Wegen deren Alkoholempfindlichkeit muß bei der Esterasemethode in allen Fällen, in denen eine Alkoholaufnahme nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, eine Dialyse der Urine erfolgen, wohingegen bei Messung mit S-2266 jede Vorbehandlung entfällt (16).

Eine gegenüber zufälligen Urinproben unbestimmter Sammeldauer sicher aussagekräftigere 24-Stunden-Sammelperiode war bei Probanden der Altersgruppe vom 3. Lebenstag bis zum 3. Lebensjahr nicht durchführbar.

II. Untersuchungen an Säuglingen und Kleinkindern

Große individuelle Schwankungen kennzeichnen die Ausscheidung von Kallikrein im Urin, die beeinflußt wird u.a. durch den Sammelzeitpunkt (tagsüber größer als nachts, morgens größer als abends), durch die Jahreszeit (im Sommer geringer als im Frühjahr), durch das Geschlecht (weiblich höher als männlich), sowie durch Verschiedenheiten der Ernährung und Unterschiede des sozialen Umfeldes der Probanden (16, 71, 72).

Um Fehler durch zufällige und kurzzeitige Einflüsse möglichst gering zu halten, erscheinen Bestimmungen in Urinen einer 24-stündigen Sammelperiode wünschenswert, was bei Untersuchungen an Erwachsenen meist möglich ist, aber bereits hier wegen des Aufwandes und der sonst eingeschränkten Kontrollmöglichkeit die Anzahl der Probanden relativ gering gehalten werden muß.

Für Untersuchungen an Säuglingen und im frühen Kindesalter muß jedoch der Gedanke einer 24-stündigen Sammelperiode im Rahmen einer Feldstudie wegen dessen Undurchführbarkeit verworfen werden.

Kraut und Werle (16) berichteten, daß zwar die interindividuelle Ausscheidung an Kallikrein sehr unterschiedlich, die intraindividuellen Schwankungen der täglichen Kallikreinausscheidung aber "relativ gering" und unabhängig vom Urinvolumen sind.

Um also den Nachteil einer "zufälligen" Probe ohne Angabe des Entnahmezeitpunktes und des Urinvolumens gering zu halten, wurden die Urinproben nur bei etwaiger augenblicklicher Konstanz der Nahrungsgewohnheiten und der Flüssigkeitszufuhr und natürlich nur unter Abwesenheit von Krankheit, besonders von Fieber, entnommen. Bei relativ großer Probandenzahl glauben wir damit zu validen Aussagen bezüglich der Kallikreinausscheidung im Urin und der anderen Vergleichsgrößen zu gelangen. Voraussichtlich wäre man zwar durch 24-Stunden-Sammelperioden bei Kontrolle von Variablen, wie z.B. der Elektrolytaufnahme zu genaueren Daten gelangt. Trotzdem erscheint die Verwendung "zufälliger" Proben sinnvoll, weil hier bei größeren Probandenzahlen Einflüsse aus der Umgebung von epidemiologischem Wert erkennbar werden könnten, die anderenfalls möglicherweise nicht entdeckt würden.

Bei Betrachtung der Kallikreinausscheidung pro ml Urin zeigt der Vergleich von Proben, für den Urin einer 24-stündigen Sammelperiode vorgelegen haben, daß die Varianz als Maß für die Schwankungsbreiten der Einzelwerte in ähnlicher Größenordnung lagen wie diejenigen mit "zufälligen" Proben. Die Varianzen vom 3. Tag bis zum 2. Jahr waren allerdings höher. Deren Größenordnung lag i.d.R. bei 100 %.

Im Einzelnen:

Bei 21 Proben aus 24-stündiger

Sammelperiode:

Varianz = 72 %

(Alter: 22 bis 35 Jahre)

Bei 33 "zufälligen" Proben:

(3-Jahresurine):

Varianz = 65,5 %

Ein Vergleich der Mittelwerte und SD für Kallikreinausscheidung/ml Urin vom 3. Tag bis 2. Lebensjahr mit dem Mittelwert der Basalausscheidung im Erwachsenenalter zeigt überraschenderweise eine Tendenz zur Abnahme auf. Hier wird aber möglicherweise der Fehler durch den Vergleich sehr unterschiedlicher Kollektive zu groß. Ferner könnte diese Tendenz als Folge der unterschiedlichen Sammelperioden entstanden sein, da die Ausscheidung, wie schon angeführt, nachts geringer ist als am Tag (73). Damit wären auch die Werte unserer zufälligen Proben im Vergleich zu 24-Stunden-Urinen relativ zu hoch. Overlack et al. (46) berichteten andererseits, daß zwischen der Kallikreinausscheidung tagsüber und während der Nacht kein signifikanter Unterschied bestand.

Ob dieses Ergebnis darüberhinaus eine reale Tendenz zur Abnahme der Kallikreinausscheidung aufzeigt, kann im Augenblick nicht geklärt werden. Dazu wären Untersuchungen mit größeren Probandenzahlen und besserer Vergleichbarkeit der Kollektive erforderlich.

Die ebenfalls etwas überraschende Abnahme der Kallikreinausscheidung pro ml im 3. Jahr verglichen mit dem 2. Jahr dürfte sich derzeit ebenfalls nicht eindeutig klären lassen (nicht signifikant). Ein Grund für dieses Ergebnis könnte in der relativ geringen Anzahl der Urinproben des 3. Lebensjahres liegen. Nach Unterteilung des Kollektivs in männlich und weiblich bleibt die Tendenz jedoch dieselbe. Möglicherweise aber markiert dieser Rückgang entscheidende Änderungen im Leben des Kindes, wie die zunehmende Beweglichkeit und vor allem Umstellungen in der Ernährung mit der Folge einer deutlich angestiegenen Kochsalzaufnahme in dieser Periode (30, 52, 70). Letzteres läßt sich an der gestiegenen Natriumausscheidung um etwa 90 % ($p < 0.001$) ablesen, wobei die Kaliumkonzentration (seit dem 6. Lebensmonat) mit etwa $63,5 \mu\text{val/ml}$ im Mittel konstant blieb.

Da die Kreatininausscheidung in etwa konstant zur Körpergröße und Muskelmasse ist, bot es sich an, das Kreatinin als Bezugsgröße zu verwenden und die Kallikreinausscheidung pro mg Kreatinin in die Betrachtungen mit einzubeziehen. Die tägliche Ausscheidung von Kreatinin schwankte in einer amerikanischen Studie nur um maximal 11 % (10) und wurde darum sogar zur Überprüfung der Vollständigkeit der Urinsammlung während 24-Stunden Sammelperioden herangezogen. Andererseits wird in derselben Studie festgestellt, daß sich das Serumkreatinin Stunden nach dem Genuß von gekochtem Fleisch verdoppelt habe (11), was sich in unseren

eigenen Untersuchungen für Meßzeitpunkte nach Umstellung auch auf Fleischernährung bemerkbar machen könnte und damit eine der Mitursachen sein könnte für die drastische Erhöhung der Kreatininkonzentration im 3. Lebensjahr.

Die hohe Korrelation ($r = 0,582$) im Vergleich der beiden Größen Kallikrein pro ml Urin und Kallikrein pro mg Kreatinin rechtfertigt die Verwendung beider Termini. Eine Entscheidung darüber, welcher der beiden Ausdrücke die Kallikreinausscheidung des Individuums besser charakterisiert, kann daraus aber nicht abgeleitet werden. Dies wäre erst mit Hilfe eines genügend großen, möglichst gleichartigen Kollektivs möglich, für das die 24-Stunden-Ausscheidungen vorliegen müssten und von dem nach einem randomisiertem Verfahren zufällige Urinproben entnommen werden müßten, aus denen die KE/ml und KE/mg Kreatinin bestimmt und gegen die 24-Stunden-Ausscheidung korreliert werden könnten.

Die hohe Kreatininkonzentration am 3. Lebenstag, die ähnliche Größenordnungen erst wieder im 3. Lebensjahr erreicht, könnte durch die Mehrausscheidung des bis zum Einsetzen der Diurese zurückgehaltenen Kreatinins während der frühen postnatalen Periode bedingt sein. Es ist zu berücksichtigen, daß die Urinmenge vom 3. bis zum 5. Lebenstag auf etwa das Dreifache ansteigt (19). Die Ausscheidungen in den anderen Altersstufen zeigen erwartungsgemäß ein Verhalten, das etwa parallel zum Gewichtsanstieg verläuft. So entspricht der

überproportionalen Gewichtszunahme zum 6. Monat auch eine solche der Kreatininausscheidung.

Ein prinzipiell ähnlicher Verlauf ergibt sich in der Studie von Endres (12). Der Rückgang der Kreatininausscheidung ist hier allerdings vom 3. zum 10. Lebenstag angegeben und beträgt nur ca. 30 %. Unerklärbar ist die Größenordnung der Werte, die für den 3. und 10. Tag im Mittel mit 0,1 bzw. 0,07 mg pro ml angegeben werden und die damit etwa um den Faktor 5 niedriger liegen als unsere Ergebnisse. Die eventuelle Differenz zwischen zufälligen Proben und 24-Stunden-Urinen dürfte dafür kaum von Bedeutung sein. Wahrscheinlich ist dagegen, daß die Neugeborenen in der Studie von Endres eine erheblich höhere Flüssigkeitszufuhr - und damit auch Diurese - hatten, was bei gleicher Kreatininingesamtmenge zwangsläufig die Konzentration senkt.

Shull et al. (57) ziehen in ihren Studien den Schluß, daß sich Unterschiede in der Muskelentwicklung zwischen Mädchen und Jungen erst ab etwa dem 10. Lebensjahr entwickeln, weshalb sich ein Unterschied in der Kreatininausscheidung auch erst in dieser Altersgruppe manifestieren könne. Andererseits ist gerade in den ersten Lebenswochen ein deutlicher Unterschied der Plasmatestosteranspiegel zwischen männlichen und weiblichen Säuglingen nachweisbar (15a). In unseren Kollektiven war zwar kein signifikanter Unterschied vorhanden, aber die Minderausscheidung bei Mädchen war in allen Altersgruppen besonders deutlich am 3. und 5. Tag und im 3. Jahr evident.

Längsschnitt

Für diese Untersuchungen wurden nach einem Rechenprogramm die Urinproben aus den verschiedenen Lebensaltern dem jeweiligen Individuum zugeordnet und die Ausscheidungen an Kallikrein pro ml Urin bzw. Kallikrein pro mg Kreatinin nur jeweils derselben Probanden in der Reihenfolge der Untersuchungen miteinander verglichen. Dabei korrelierte die Ausscheidung Kallikrein pro mg Kreatinin in keinem der Fälle, die Kallikrein-Konzentration nur vom ersten zum zweiten Lebensjahr ($r = 0,337$; $p < 0,001$). Möglicherweise "stabilisiert" sich das KKS und damit die intraindividuelle Kallikreinausscheidung erst im 1. Lebensjahr. Die fehlende Korrelation zum 3. Lebensjahr könnte eine Folge der hier noch zu geringen Probandenzahl sein. Ob sich derlei Hypothesen bestätigen, wird sich in Nachfolgeuntersuchungen erweisen müssen. Für unsere Kollektive muß nach den bisherigen Ergebnissen bis zum Augenblick noch davon ausgegangen werden, daß zwar die Kallikrein-Konzentration im Urin vom 5. Tag bis zum 1. Lebensjahr im Mittel signifikant zunimmt (Abb. 3), aber in unbestimmt divergierender Form und daß dieser Anstieg nicht (mit gewisser Irrtumswahrscheinlichkeit) durch eine lineare Beziehung der Form $y = ax + b$ ausgedrückt werden kann.

In einer ähnlichen Untersuchung von Zinner (71, 72), in der 385 Kinder im Alter von 2 bis 14 Jahren nach 3 Jahren miteinander verglichen wurden, ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,499$ bei Verwendung von ebenfalls "zufälligen" Proben.

Wesentlich für die Unterschiede im Ergebnis dürfte das unterschiedliche Altersgefüge in der Zinner-Studie sein, das die Vergleichbarkeit mit unseren Daten, die sehr homogenen Altergruppen entsprechen, erheblich einschränkt. Zinner et al. machen keine Angaben über das Verhalten der Kallikreinausscheidung in verschiedenen Altersstufen. Unseren Ergebnissen zufolge, nimmt die Kallikreinausscheidung zumindest zwischen dem 5. Tag und dem 2. Lebensjahr zu. Ob mit zunehmendem Alter weitere systematische Änderungen erfolgen, werden erst spätere Studien mit größeren Probandenzahlen im Alter von 3 und mehr Jahren zeigen.

Die Resultate aus der einfach linearen Regressionsanalyse im 2. Lebensjahr weisen auf Einflüsse vor allem des Kaliums auf die Kallikreinausscheidung hin. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Beobachtung von Zinner (71, 72). Die Betrachtung der Korrelationsmatrices des 1. und 2. Lebensjahres lassen dagegen wegen Zahl und Rang der Interdependenzen des Kreatinins eher in diesem eine dominante Rolle als Einflußfaktor im Block Kallikrein-, Kreatinin-, Natrium-

und Kaliumausscheidung vermuten. Dem Verdacht, es handle sich bei den Ergebnissen vornehmlich um einen trivialen Folgeeffekt, indem in stärker konzentriertem Urin bei höherer Kreatininkonzentration eben auch mehr Kalium und Kallikrein ausgeschieden wird, widerspricht das Verhalten der Natriumausscheidung, das zumindest keine signifikanten Korrelationen gleicher Richtung erkennen ließ. Mit dem Quotienten Kallikreinausscheidung pro mg Kreatinin ist zudem eine von der Kreatininausscheidung unabhängige Größe eingeführt worden, die dann in der multivariablen Analyse zwar keinen Zusammenhang zum Kalium, aber eine streng negative Korrelation zur Natriumausscheidung ergab.

Die multivariablen Analysen, die es erlaubte, "reine" Korrelationen zweier Variablen durch den mathematischen Anschluß anderer Störgrößen darzustellen, ausgedrückt im Standard Regressionskoeffizient, widerlegen den oben geäußerten Verdacht ebenfalls, weil sie unabhängige Beziehungen zwischen der Kallikreinausscheidung pro ml Urin und der Natriumausscheidung (invers), der Kreatininausscheidung und der Kaliumausscheidung in absteigender Reihenfolge erwiesen haben.

Die teilweise unterschiedlichen Ergebnisse bei Korrelationen zwischen weiblichen und männlichen Teilkollektiven und dem Gesamtkollektiv dürften keine systematische Ursache haben, sondern als zufällige Unterschiede in der Folge der bereits

angesprochenen Nachteile "zufälliger" Urinproben zu interpretieren sein. Die Tatsache, daß die Zusammenhänge im KKS, die sich im 2. Lebensjahr zeigen, im 1. Lebensjahr nur teilweise vorhanden sind bzw. deren Korrelationen in der Matrix nur eine Tendenz in selber Richtung aufweisen, ebenso wie das Fehlen dieser Zusammenhänge in früheren Altersstufen, weist darauf hin, daß sich diese erst ab etwa dem 1. Lebensjahr ausreichend stabilisieren.

Möglicherweise hätten jedoch 24-Stunden-Sammelperioden bereits zu früheren Zeitpunkten zu konkreten Ergebnissen geführt.

Die im Zusammenhang mit einer eventuellen Hypertoniegenese besonders interessierende Frage des Blutdruckverhaltens, bezogen auf die Kalikreinausscheidung, führte bei uns zu keinen signifikanten Ergebnissen. Zinner et al. (71, 72) fanden an den Randbereichen ihres insgesamt deutlich älteren Kollektivs eine schwach signifikante, inverse Korrelation. Dazu wurden aber meist Kinder von Familien ausgewählt, die durch hohe bzw. niedrige Ausscheidungsraten an Kalikrein bzw. hohen oder niedrigen Blutdruck auffielen.

Bei einer Auswahl von 36 Kindern in 10 Familien lag die Irrtumswahrscheinlichkeit bei $0,05 < p < 0,1$, wobei der Einfluß von Rassenunterschieden (Schwarze scheiden auch im Kindesalter weniger Kalikrein aus) wegen der geringen Probandenzahl noch nicht eliminiert werden konnte.

Nur in einem Fall werden die beiden Größen unmittelbar nach ihrer Höhe bei den Probanden verglichen. Die bei Zinner et al. signifikanten ($p < 0,05$) Differenzen des entsprechenden Parameters (inverse Beziehung) sind in einem Kollektiv mit erheblichen Altersunterschieden zustande gekommen, das nur einige wenige Probanden im Alter von 2 Jahren enthält und deren übrige Probanden altersmäßig bis 18 Jahre streuten. Nach unseren eigenen Ergebnissen wäre es denkbar, daß die Kallikreinausscheidung ab dem 2. Lebensjahr relativ geringer ansteigt, bzw. sogar abnimmt. Die allerdings nur unter Vorbehalten mögliche Extrapolation auf das Erwachsenenalter (Mittelwert des Kollektivs in Teil F der Arbeit) weist in dieselbe Richtung. Andererseits ist für Kinder ein Anstieg des Blutdruckes mit zunehmendem Alter gesichert. Damit liegt der Verdacht nahe, daß es sich bei der oben zitierten Korrelation nicht mehr um eine echte Korrelation handelt.

Untersuchungen an Erwachsenen

Über die Kallikreinausscheidung bei Hypertonikern liegen sehr unterschiedliche, teilweise widersprüchliche Angaben vor. In älteren Studien (3, 23, 32, 38) ergibt sich stets, daß bei Hypertonien verschiedener Genese mit Ausnahme des primären Hyperaldosteronismus (32) die Kallikreinausscheidung vermindert ist.

Margolius et al. (33, 34, 35) fanden bei essentiellen Hypertonikern eine Reduktion der basalen Kallikreinausscheidung auf 45 % der Norm und liegen damit in derselben Größenordnung wie von Elliot und Nuzum (55 %) (13) erstmals berichtet und auch von anderen (45, 4, 38) beschrieben.

In einer neueren Veröffentlichung, in der die Kaliumzufuhr bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen mit etwa 80 mval konstant gehalten wird, berichten Lawton et al. (22) auch über gegenüber der Norm unveränderte Kallikreinausscheidung bei 18 EH, deren Blutdruckmittelwert mit 138 ± 2 zu 95 ± 2 mmHg gemäß der WHO-Definition aber allenfalls der Grenzwerthypertonie zuzuordnen ist. Lawton et al. beschrieben in einer früheren Veröffentlichung (22), daß Hypertoniker mit normalen Plasma-Renin-Spiegeln verglichen mit altersentsprechenden Kontrollgruppen gleichen Geschlechts keine unterschiedliche Kallikreinausscheidung hatten. Zschie-d-ri- (55) et al., die in ihrer Studie keine Angaben über die Kaliumaufnahme machen, bestätigen dieses Ergebnis an 14 normotensiven und 15 hypertensiven Probanden, wobei das

Kallikrein mit 4 Methoden u.a. der in unserer Studie verwendeten, bestimmt wurde. Als Ursachen für solche unterschiedliche Resultate der basalen Ausscheidung an Kallikrein bei EH kommen z.B. rassische Unterschiede, vor allem in U.S.-amerikanischen Kollektiven in Frage. Die Studie von Margolius (32) enthielt 25 Weiße und 2 Schwarze in der Kontrollgruppe, dagegen 3 Weiße und 8 Schwarze im hypertensiven Kollektiv. Daneben könnte das unterschiedliche Alter der Probanden in den verschiedenen Studien, kaum aber die Behandlung der Urinproben, wie von Lawton et al. vermutet, eine Rolle spielen. Lawton et al. haben die Proben entsalzt und bei - 4 Grad C aufbewahrt, andere dagegen ohne Vorbehandlung bei - 30 Grad C eingefroren. Auch unsere Proben waren aber bei - 18 Grad C ohne Vorbehandlung eingefroren worden.

In Übereinstimmung mit unserem Ergebnis wird in einer Reihe weiterer Studien der drastische Anstieg der Kallikreinausscheidung nach Reduktion der Kochsalzzufuhr angegeben (30, 45, 47, 48), der für EH deutlich geringer ausfällt als für NP. Daß dieser auch bei uns deutliche Anstiegsunterschied zwischen EH und NP, mit Ausnahme des salzsensitiven Teilkollektivs, nicht signifikant wird, dürfte an der zu geringen Probandenzahl liegen. Die überraschende Tatsache, daß 4 EH auf Reduktion der Salzzufuhr mit einer Verminderung der Kallikreinaus-

scheidung reagierten (hier aber auch nur geringer Anstieg der Kaliumexkretion), wird nur noch von Lawton et al. berichtet, die 18 EH untersuchten und dieselbe Reaktion bei 3 Probanden feststellten, wobei deren Aldosteronantwort ebenso wie die Erhöhung der PRA nach Natriumentzug normal verlaufen war. Weder die PRA noch das Aldosteron sind demnach als Ursache für diese Normabweichung wahrscheinlich (22).

Die unterschiedliche Kaliumsubstitution, die in dieser Studie mit konstant 80 mval durchgeführt wurde (im Gegensatz dazu bei uns mit 200 mval Kalium bei natriumarmer Diät), scheint dafür auch nicht maßgebend zu sein.

Levy et al. (30) hatten Kalium mit konstant 80 mval substituiert, aber an 25 Hypertonikern (18 Weiße, 7 Schwarze) in keinem Fall einen Rückgang der Kallikreinausscheidung beobachtet. Zwar geben Lawton et al. eine niedrigere Kaliumausscheidung der EH gegenüber den NP an, alle Kollektive wiesen aber im Serumwert für Kalium keine Unterschiede auf, so daß ein direkter Zusammenhang zwischen der Kalium- und der Kallikreinausscheidung nicht vermutet wurde (22).

In unserem Fall könnte allerdings die Steigerung der Kaliumzufuhr bei natriumarmer Diät die Kallikreinausscheidung über eine Aldosteronerhöhung zusätzlich stimuliert worden sein. Wegen der von anderen Autoren berichteten erhöhten Kallikreinausscheidung bei primärem Hyperaldosteronismus (32) wurde dem Aldosteron eine

Rolle als Regulator der renalen Kallikreinfreisetzung zugesprochen. Margolius et al. und Seino et al. (22) haben jedoch auch einige Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus beschrieben, die normale Kallikreinausscheidungen hatten.

Normale Mengen an Urinkallikrein bei gleichzeitig erhöhter Aldosteronausscheidung erheben die Frage, ob nicht andere, bisher unbekannte Faktoren die Kallikreinausscheidung entscheidend beeinflussen.

Ebenfalls in diesem Sinne gedeutet werden müssen wohl unsere Ergebnisse der multiplen Analysen (in Teil D der Arbeit), in denen das Quadrat des multiplen Regressionskoeffizienten (das Bestimmtheitsmaß ^{theit} B), zum Ausdruck bringt, daß nur 15 bis 20 % der Varianz unserer Zielvariablen (KE/ml oder KE/mg Kreat.) durch die Korrelationen mit den betrachteten unabhängigen Variablen erklärbar sind. Zinner et al. (71, 72) betrachteten zusätzliche Variable wie den Quotienten Kallikrein/Kreatinin der Mutter, behandelte Hypertonie der Mutter und deren Blutdruck, sowie Jahreszeit und Tageszeit der Probenentnahme und konnten damit 39 % der Varianz der Kallikreinausscheidung bei Kindern erklären.

Die oben angegebene "abnorme" Reaktion jener 4 EH bleibt, jedenfalls im Augenblick, unerklärbar. Ob für die Genese der essentiellen Hypertonie ein genetischer Defekt als Ursache in Frage kommt und ob es sich bei jenen 4 Pro-

banden möglicherweise um eine besondere Ausprägung eines solchen Defektes handelt, wird sich vielleicht in künftigen Untersuchungen mit entsprechend großen Probandenzahlen klären lassen.

H Z U S A M M E N F A S S U N G

I. Untersuchungen an Säuglingen und Kleinkindern

1. Die Kalikreinausscheidung besonders im Säuglings-, aber auch im frühen Kindesalter unterliegt erheblichen intra- und interindividuellen Schwankungen.

Die Ausscheidungen in KE/ml Urin wiesen am 3. und 5. Tag keinen Unterschied auf und stiegen dann bis zum 2. Lebensjahr kontinuierlich an ($p < 0,01$).

Die Ausscheidung in KE/mg Kreatinin stieg vom 3. zum 5. Tag auf etwa das Doppelte ($p < 0,01$) an, war im 6. Mon. nur geringfügig höher und stieg nach einem und zwei Jahren weiter an ($p < 0,001$ bzw. $< 0,01$). Zum 3. Jahr erfolgte ein Rückgang auf etwa die Hälfte des Zweijahreswertes (nicht signifikant).

2. Die Kaliumkonzentration im Urin halbierte sich im Mittel vom 3. zum 5. Tag ($p < 0,001$). Zum 6. Monat erfolgte ein Anstieg auf etwa das $\frac{2}{3}$ -fache. Dann blieb die Urinkaliumkonzentration im betrachteten Zeitraum (bis zum 3. Lebensjahr) zwischen 60 und 65 mval/ml konstant. Die Urin-Natriumkonzentration war am 3. und 5. Tag praktisch identisch. Zum 6. Monat sowie zum 3. Lebensjahr erfolgte jeweils ein drastischer Anstieg ($p < 0,001$).

Bei Jungen war die Kalium- und Kreatininausscheidung in allen betrachteten Lebensaltern höher als bei Mädchen (signifikant war nur der Unterschied der Kaliumausscheidung am 3. Tag).

Korrelation (einfach linear) ergaben sich in Teilkollektiven zwischen der Kaliumkonzentration und der Kallikreinkonzentration sowie zwischen der Kreatininkonzentration und der Kallikreinkonzentration im Urin. Die multiple lineare Regressionsanalyse ergab bei 2-Jahresurinen eine inverse Korrelation des Quotienten Kallikrein/mg Kreatinin mit der Natriumkonzentration im Urin.

II. Untersuchungen an normotonen Erwachsenen und Patienten mit essentieller Hypertonie

1. Unter natriumarmer Diät erhöhte sich die Kallikreinausscheidung bei NP im Mittel etwa um den Faktor 2 (Anstieg signifikant, $p < 0,001$).

Bei den salzsensitiven EH gegenüber den nichtsensitiven EH war auch der Anstiegsunterschied signifikant ($p < 0,05$).

2. 4 Probanden aus den EH (2 sensitive, 2 nichtsensitive) reagierten auf die Verminderung der Na-Zufuhr mit einer Verminderung der Kallikreinausscheidung.

3. Bei Reduktion der Na-Aufnahme und Steigerung der Kaliumzufuhr war die Kaliumausscheidung bei NP mehr als verdoppelt ($p < 0,001$). Bei den EH zeigte sich lediglich ein Anstieg um etwa 20 - 30 % (nicht signifikant). Zum Teil sind die Unterschiede der Kallikreinausscheidung eventuell aus diesem Unterschied erklärbar.

LITERATUR

1. ABE, K., SEINO, M., YASUJIMA, M. et al: Studies on renomedullary prostaglandin and kallikrein - kinin system in hypertension.
Japanese Circulation Journal 41, 873 (1977)
2. ABE, K., IROBAWA, N., YASUJIMA, M., SEINO, M. et al: Their relation to furosemide-induced diuresis and to the renin-angiotension-aldosterone system in man.
Circ. Res. 43, 254 (1978)
3. ABELOUS, J.E., and BARDIER, E.: Les substances hypotensives de l'urine normale.
CR Soc. Biol. (Paris) 66, 511 (1911)
4. ALBERTINI, R., ROSAS, H.R., CROXATTO, H.R. and ROBLERO, J.: Kallikrein-kinin system in one- and two-kidney Goldblatt hypertensive rats.
Clinical Science 56, 227-233 (1979)
5. AMUNDSEN, E., PÜTTER, J., FRIBERGER, P., KNÖS, M., LARSBRATEN, M., CLAESON, G.: Methods for the determination of glandular kallikreins by means of a chromogenic tripeptide substrate.
Im Druck.
6. ANGG'ARD, E., LARSSON, C., WEBER, P.C.: Adv. Prostaglandin.
Thromboxane Res. 2, 587-594 (1976)
7. BAGGIO, B., FAVARO, S., PICCOLI, A., BORSATTI, A.: Kidney kallikrein and phospholipase activities in Milan spontaneously hypertensive rats.
Prostaglandins 18, No. 1; 83-88 (1979)
8. BARRACLOUGH, M.A., MILLS, H.I.: Effect of bradykinin on renal function.
Clinical science 28, 69-74 (1965)
9. CARRETERO, O.A., AMIN, V.M., OCHOLIK, T., SCICLI, A.G., KOCH, J.: Urinary kallikrein in rats bred for their susceptibility and resistance to the hypertensive effect of salt.
Circulation Research 42, 727 (1978)

10. CARRETERO, O.A., SCICLI, A.G.: The renal kallikrein-kinin system: implications for renal function regulation.
Proc. 8th. Congr. Nephrol., Athens; 1037-1041 (1981)
11. COOPER, R., SOLTERO, J., LIN, K., BERKSON, D., LEVINSON, S., STAMLER, J.: The association between urinary sodium excretion and blood pressure in children.
Circulation 62 No. 1, 97-103 (1980)
12. ENDRES, W., SEIBOLD, H.: Renal excretion of cystathionine and creatinine in humans at different ages.
Clinica Chimica Acta 87, 425-432 (1978)
13. ELLIOT, A.H., and NUZUM, F.R.: Urinary excretion of a depressor substance (Kallikrein of Frey and Kraut) in arterial hypertension.
Endocrinology 18, 462-474 (1934)
14. ERCAN, Z.S., TÜRKER, R.K., TORUNOGLU, M.: Antagonistic effect of kallikrein against bradykinin.
Drug Research 28, (II), 1712-1714 (1978)
15. ERDÖS, E.G.: Commentary; - the kinins.
Biochemical Pharmacol. and Internal Medicine 25, 1563-1569 (1976)
- 15a. FOREST, J.: Clin. Endocrin. Metab. (1973)
16. FREY, E.K., KRAUT, H., WERLE, E.: Kallikrein (Padutin^R).
F. Enke, Stuttgart (1950)
17. FRITZ, H., FIEDLER, F., DIETL, T. et al: On the relationship between porcine pancreatic, submandibular and urinary kallikreins. In: Kininogenases - Kallikrein 4, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, p.p. 15-28 (1977)
18. GEIGER, R., STUCKSTEDTE, U., FÖRG-BREY, B., FINK, E.: Human urinary kallikrein - biochemical and physiological aspects.
Aus: Kinins-II: Biochemistry, pathophysiology, and clinical aspects (Plenum Publishing Corp.), 235-244 (1979)
19. Geigy, Wissenschaftliche Tabellen Teilband Statistik, 8. Auflage, Basel, 1980

20. HABERLAND, G.L.: Gewebshormone der gesunden und der kranken Niere. Niederschrift aus Vortrag anlässlich des XXI. Hamburger Symposiums über Blutgerinnung. "Niere, Blutgerinnung und Hämostase". (1978)
21. HELMER, O.M.: Hormonal and biochemical factors controlling blood pressure.
In: Les concepts de Claude Bernard sur le milieu interieur. Paris, Lib. de l'Acad. de Med., 115-128 (1967)
22. HULTHEN, U.L., LEEROF, H., HÖKFELT, B.: Renal venous output of kinins in patients with hypertension and unilateral renal artery stenosis.
Acta Med. Scand. 202, 189-191 (1977)
23. KEISER, H.R., GELLER, R.G., MARGOLIUS, H.S., PISANO, J.J.: Urinary kallikrein in hypertensive animal models. Federation Proceedings 35, No. 2; 199-202 (1978)
24. KÖNIG, A.: Ein Programm zur Durchführung von Faktorenanalysen bei medizinischen Fragestellungen.
Dissertation an der Med. Fak. der Univ. München (1980)
25. Kutzbach, Informationsschrift der Abt. Verfahrensentwicklung Biochemie (Bayer Wuppertal): Hinweise zur Handhabung von reinem Kallikrein (1978)
26. LAWTON, W.J., FITZ, A.E.: Abnormal urinary kallikrein in hypertension is not related to aldosterone or plasma renin activity.
Hypertension 2, Vol. 6, 781-793 (1980)
27. LECHI, A., COVI, G., CORGNATI, E., AROSIO, E., ZATTI, M., SCURO, L.A.: Urinary kallikrein excretion and plasma renin activity in patients with essential hypertension and primary aldosteronism.
Clinical Science and Molecular Medicine 55, 51-55 (1978)
28. LEE, SH.-CH., LEVINE, L: Prostaglandin metabolism.
J. biol. Chem. 249, 1369 (1974)
29. LEVY, S.B., LILLEY, J.J., FRIGON, R.P., STONE, R.A.: Urinary kallikrein and plasma renin activity as determinations of renal blood flow.
The Journal of Clinical Investigation 60, 129-138 (1977)

30. LEVY, S.B., FRIGON, R.P., STONE, R.A.: The relationship of urinary kallikrein activity to renal salt and water excretion.
Clinical Science and Mol. Med. 54, 39-45 (1978)
- 30a. LEVY, S.B., TALNER, L.B., COEL, M.N., HOLLER, R., STONE, R.A.: Renal vasculature in essential hypertension: renal differences.
Am. Intern. Med. 12, 88 (1978)
31. LILLEY, J.J., HSU, I., FRIGON, R., STONE, R.A.: Kallikrein activity in human urine: the influence of race.
Clin. Res. 24, 256 (1976)
32. MARGOLIUS, H.S., PISANO, J.J., GELLER, R., SJOERDSMA, A.: Altered urinary kallikrein excretion in human hypertension.
The Lancet, 1063-1065 (1971)
33. MARGOLIUS, H.S., CHAO, J., KAIZU, T.: The effects of aldosterone and spironolactone on renal kallikrein in the rat.
Clinical Science and Mol. Med. 51, 279-282 (1976)
34. MARGOLIUS, H.S.: Kallikrein, Kinins, and the kidney: What's going on in there?
The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 91, No. 5, 717-720 (1978)
35. MARGOLIUS, H.S., HORWITZ, D., PISANO, J.J., KEISER, H.R.: Relationships among urinary kallikrein, mineralocorticoids and human hypertensive disease.
Fed. Proc. 35, No. 2, 203 (1976)
36. MARGOLIUS, H.S., CHAO, J., SHINNAMOTO, K.: New approaches to the study of kallikrein in relation to renal function. Enzymatic Release of Vasoactive Peptides, ed. by F. Gross and G. Vogel.
Raven Press, New York: 313-320 (1980)
37. MERSEY, J.H., WILLIAMS, G.H., HOLLENBERG, N.K., DLUHY, R.G.: Relationship between aldosterone and bradykinin.
Circ. Res. Vol. 40, No. 5, Supp. I (1977)
38. MILLS, J.H.: Kallikrein, kininogens and kinins in control of blood pressure.
Nephron 23, 61-71 (1979)

39. MITAS, J.A., LEVY, S.B. et al: Urinary kallikrein activity in the hypertension of renal parenchymal disease.
The New England Journal of Medicine 299, No. 4, 162 (1978)
40. MURPHY, V., WALDRON, T.I., GOLDBERG, M.E.: The mechanism of bradykinin potentiation after inhibition of angiotensin-convertin enzyme by SQ 14, 225 in conscious rabbits.
Circ. Res. 43, 1-40 (1978)
41. NASJILETTI, A., COLINA-CHOURIO, J.: Interaction of mineralocorticoids, renal prostaglandins and the renal kallikrein-kinin system.
Fed. Proc. 35, 189 (1976)
42. NUSTAD, K., VAAJE, K., PIERCE, J.V.: Synthesis of kallikreins by rat kidney slices.
Brit. J. Pharmacol. 53, 229 (1975)
43. PIERCE, J.V. and WEBSTER, M.E.: Human plasma kallidins: isolation and chemical studies.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 5, 353 (1964)
44. ORSTAVIK, T.B.: The kallikrein-kinin system in exocrine organs.
J. Histochem. Cytochem. 28, 881 (1980)
45. OVERLACK, A., STUMPE, K.O., ZYWZOK, W., RESSEL, C., KRÜCK, F.: Renale Kallikreinausscheidung bei Normotonikern und Hypertonikern unter unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.
Im Druck.
46. OVERLACK, A., STUMPE, K.O., ZYWZOK, W., RESSEL, C., KRÜCK, F.: Defect in kallikrein-kinin-system in essential hypertension and reduction of blood pressure by orally given kallikrein.
Kinins II: Biochemistry, pathophysiology, and clinical aspects, Vol. B, 359-547 (1979)
47. PISANO, J.J., CORTHORN, J., YATES, K., PIERCE, J.V.: The kallikrein-kinin-system in the kidney.
Contr. Nephrol. 12, 116-125 (1978)

48. RAPP, J.P., MARGOLIUS, T. and H: Plasma mineral-corticoids, plasma renin, and urinary kallikrein in salt-sensitive and salt-resistant rats.
Endocrine Research Comm. 5 (1), 35-41 (1978)
49. ROBINSON, S., DILL, D.B., WILSON, J.W., NIELSON, M.: Adaptions of white men and negroes to prolonged work in humid heat.
Am. J. Trop. Med. 21, 261 (1941)
50. ROBLERO, J., CROXATTO, H., GARCIA, R., CORTHORN, J., DE VITO, E.: Kallikreinlike activity in perfusates and of isolates rat kidneys.
American Journal of Physiology 231, 1383 (1976)
51. SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden, 3. neubearbeitete Auflage.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, N.Y.
52. SCHERER, B., WEBER, P.C.: Renal factors in juvenile hypertension.
Klin. Wochenschr. 58, 1099-1104 (1980)
53. SCHERER, B., FRIEDMANN, B., DUMBS, A., HOLZMANN, K., WEBER, P.C.: Urinary prostaglandins in human neonates: relationship to kidney function and blood pressure.
Klin. Wochenschr. 58, 449-455 (1980)
54. SCICLIE, A.G., CARRETERO, O.A., HAMPTON, A., CORTES, P., OZA, N.B.: Site of kininogenase secretion in the dog nephron.
Am. J. Physiol. 230, 533-536 (1976)
55. SCICLIE, A.G., CARRETERO, O.A., OZA, N.B.: Distribution of kidney kininogenases.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 151, 57-60 (1976)
56. SHINAMOTO, K., CHAO, J., MARGOLIUS, H.S.: The radio-immunoassay of human urinary kallikrein and comparisons with kallikrein activity measurements.
J. of Clinical Endocrinology and Metabolism 51, No. 4, 840-847 (1980)
57. SHULL, C.S., HAUGHEY, D., KOUP, J.R., BALIAH, T., PHILIP, K.L.: A useful method for predicting creatinine clearance in children.
Clin. Chem. 24, 1167-1169 (1978)

58. SOFFER, R.L.: Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasocative peptides.
Ann. Rev. Biochem. 45, 73 (1976)
59. STOFFEL, H.: Untersuchungen zur Methode der Kallikreinbestimmung im menschlichen Urin mit dem chromogenen Substrat S-2266.
Doktorarbeit in Vorbereitung; Med. Fak. LMU, München
60. WARREN, S.E., O'CONNOR, D.T.: Does renal vasodilator system mediate racial differences in essential hypertension.
The American Journal of Med. 69, 425 (1980)
61. VINCI, J.M., ZUSMAN, R.M., IZZO, J.L., BOWDEN, R.E., HORWITZ, D., PISANO, J.J., KEISER, H.R.: Relationship to sodium-retaining steroids and plasma renin activity.
Circulation Res. 44, No. 2, 228 (1979)
62. VINCI, J.M., HORWITZ, D., ZUSMAN, R.M., PISANO, J.J., CATT, K.J., KEISER, H.R.: The effect of converting enzyme inhibition with SQ 20, 881 on plasma and urinary kinins, prostaglandin E, and angiotensin II in hypertensive man.
Hypertension 1, No. 4, 416 (1979)
63. Vital statistics of the U.S. mortality statistics, U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Div. of vital statistics, vol. 2, part A, sect. 6, Washington (1967)
64. WARD, P.W., GEDNEY, C.D., DOWBEN, R.M. and ERDÖS, E.G.: Isolation of membrane bound renal kallikrein and kininase.
Biochem. J. 15, 755-758 (1975)
65. WARD, P.E., ERDÖS, E.G. In: HABERLAND, G.L., ROHEN, J.W., SUZUKI, T.: Kininogenases-Kallikrein 4, Schattauer, Stuttgart - New York, 107-112 (1977)
66. WEBER, P.C., MANN, K.: Gewebshormone der Niere.
Internist 18, 529-537 (1977)
67. WEBER, P.C., LARSSON, C., SCHERER, B.: Prostaglandin E_2 -9-ketoreductase as a mediator of salt intake-related prostaglandin-renin interaction.
Nature 266, 65 (1977)

68. WEBER, P.C., SCHERER, B., HELD, E., SIESS, W.,
STOFFEL, H.: Urinary prostaglandins and kallikrein
in essential hypertension.
Clinical Science 57, 259-261 (1979)
69. WERLE, R., BUSSE, R., SCHMAL, A.: Über die Kallikrein-
ausscheidung im Harn des Menschen nach Nierentransplan-
tation.
Klin. Wochenschr. 46, 1315 (1968)
70. WONG, P.Y., TALAMO, R.C., WILLIAMS, G.H., COLMAN, R.W.:
Response of the kallikrein-kinin and renin-angiotensin
systems to saline infusion and upright posture.
The Journal of Clinical Investigation 55, 691-698 (1975)
71. ZINNER, S.H., MARGOLIUS, H.S., ROSNER, B., KEISER, H.R.,
KASS, E.H.: Familial aggregation of urinary kallikrein
concentration in childhood: relation to blood pressure,
race and urinary electrolytes.
Am J. Epidemiol. 124-132 (1976)
72. ZINNER, S.H., MARGOLIUS, H.S., ROSNER, B., KASS, E.H.:
Stability of blood pressure rank and urinary kallikrein
concentration in childhood: an eight-year follow-up.
Circulation 58, 908-915 (1978)
73. ZSCHIEDRICH, H., FLECKENSTEIN, P., GEIGER, R., FINK, E.,
SINTERHAUF, K., PHILIPP, Th., DISTLER, A., WOLFF, H.P.:
Urinary kallikrein in normotensive subjects and patients
with essential hypertension.
Clinical Science 57, 247-250 (1979)

männlich und weiblich zusammen * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, gegenüber Vordatum

	3. Tag n = 49	5. Tag n = 78	6 Mon. n = 53	1 Jahr n = 132	2 Jahre n = 110	3 Jahre n = 33
Kallikrein (KE/ml)	0,015 + 0,002	(0,014) + 0,006	0,026 ** + 0,004	0,055 ** + 0,004	0,084 ** + 0,008	0,066 + 0,007
Kreatinin (mg/ml)	0,530 + 0,044	0,255 *** + 0,026	0,358 ** + 0,026	0,390 + 0,022	0,422 + 0,029	0,630 + 0,049
Kall/Kreat. (KE/mg)	0,039 + 0,007	(0,077) ** + 0,01	0,085 + 0,012	0,204 *** + 0,023	0,262 ** + 0,022	0,129 + 0,015
Natrium ⁺ (mval)	8,0 + 1,45	9,3 + 1,20	58,0 *** + 5,60	78,4 + 5,22	83,5 + 4,9	150,9 *** + 14,0
Kalium ⁺ (mval)	16,19 + 1,06	8,2 *** + 0,73	63,5 *** + 5,3	62,0 + 3,7	64,4 + 4,9	64,0 + 7,0
RR syst. (mmHg)	69,42 + 0,80	73,2 ** + 0,76	85,1 *** + 1,11	100,6 *** + 0,78	104,5 *** + 0,6	107,3 + 0,9
RR diast. (mmHg)	40,65 + 0,69	40,79 + 0,73	50,58 *** + 1,17	65,2 *** + 0,76	68,5 *** + 0,7	69,8 + 0,9
Gewicht (kg)	3,37 + 0,06	3,41 + 0,05	8,46 *** + 0,14	10,42 *** + 0,10	12,73 *** + 0,14	15,43 *** + 0,37

männlich und weiblich getrennt		MW (SD)	* p<0,05	
Kallikrein/ml		Kreatinin weibl. männl.	Natrium ⁺ weibl. männl.	Kalium ² weibl. männl.
weibl. männl.	weibl. männl.			
3. Tag				
männl.: n = 32	0,021* (0,015)	0,462 (0,381)	7,0 (7,5)	12,7 (6,34)
weibl.: n = 15		0,560 (0,274)	8,4 (11,2)	17,7* (7,5)
5. Tag				
männl.: n = 49	0,018 (0,017)	0,201 (0,086)	12,1 (13,6)	7,2 (4,2)
weibl.: n = 29		0,287 (0,290)	7,5 (8,1)	8,9 (7,5)
6 Mon.				
männl.: n = 27	0,020 (0,021)	0,337 (0,193)	55,4 (40,6)	59,0 (35,5)
weibl.: n = 26		0,376 (0,193)	60,3 (43,5)	67,1 (43,3)
1 Jahr				
männl.: n = 53	0,059 (0,056)	0,385 (0,266)	77,8 (56,6)	56,8 (38,7)
weibl.: n = 57		0,393 (0,246)	78,8 (62,4)	65,9 (48,3)
2 Jahre				
männl.: n = 79	0,084 (0,085)	0,406 (0,292)	84,9 (55,1)	59,3 (42,9)
weibl.: n = 52		0,435 (0,318)	82,2 (49,8)	69,0 (58,6)
3 Jahre				
männl.: n = 15	0,054 (0,037)	0,571 (0,298)	130,1 (70,7)	48,2 (37,9)
weibl.: n = 18		0,701 (0,264)	176,0 (87,0)	83,0 (36,7)

männlich und weiblich getrennt

MW (SD)

n s. Tab. 3!	Kall./Kreat.		RR syst.		RR. diast.		Gewicht	
	weibl.	männl.	weibl.	männl.	weibl.	männl.	weibl.	männl.
3. Tag	0,080 (0,081)	0,021 (0,018)	66,9 (4,9)	70,5 (5,6)	39,4 (5,5)	41,1 (4,5)	3,22 (0,40)	3,43 (0,43)
5. Tag	(0,013)	0,056 (0,129)	74,0 (4,6)	72,7 (7,6)	40,2 (5,1)	41,1 (7,1)	3,26 (0,30)	3,50 (0,51)
6 Mon.	0,085 (0,089)	0,085 (0,087)	84,2 (7,5)	85,7 (8,5)	51,2 (8,6)	50,0 (8,6)	8,37 (0,97)	8,52 (1,10)
1 Jahr	0,213 (0,196)	0,197 (0,308)	100,4 (8,0)	100,7 (8,1)	66,7 (8,3)	64,2 (7,4)	9,91 (1,10)	10,80 (1,10)
2 Jahre	0,286 (0,280)	0,240 (0,196)	103,7 (6,7)	105,2 (6,2)	69,2 (6,5)	67,8 (8,1)	12,18 (1,45)	13,21 (1,46)
3 Jahre	0,142 (0,113)	0,114 (0,052)	108,1 (6,2)	106,2 (4,0)	70,3 (3,6)	69,3 (7,2)	14,72 (1,69)	16,30 (2,38)

KORRELATIONSKOEFF.
(EINFACHE LIN. REGRESSION)

* $p < 0,05$
** $p < 0,01$
*** $p < 0,001$

Tabelle 4

Kall./ml Urin mit Kreatinin und Kalium

	Kreatinin (mg/ml)			Kalium† (mval)		
	gesamt	männlich	weiblich	gesamt	männlich	weiblich
1 Jahr	0,176* (n = 132)	0,074 (n = 75)	0,302* (n = 57)	0,095 (n = 132)	-0,021 (n = 75)	0,304* (n = 57)
2 Jahre	0,294*** (n = 111)	0,323* (n = 59)	0,258 (n = 52)	0,353*** (n = 110)	0,469*** (n = 58)	0,185 (n = 52)
3 Jahre	0,093 (n = 33)	0,647** (n = 15)	-0,544* (n = 18)	0,239 (n = 33)	0,091 (n = 15)	0,179 (n = 18)

Tabelle 5

Geschl.	Geschl.	Kall.	Kreat.	Na	K	RR syst.	RR diast.	Gewicht	Quot.
	1,0								
Kall.	- 0,166	1,0							
Kreat.	0,058	0,264	1,0						
Na	- 0,042	0,103	0,304	1,0					
K	0,023	0,138	0,426	0,243	1,0				
RR syst.	0,016	0,027	- 0,050	- 0,020	- 0,023	1,0			
RR diast.	- 0,127	0,148	0,083	0,118	0,042	0,504	1,0		
Gewicht	0,340	- 0,070	- 0,050	- 0,113	- 0,092	0,212	0,190	1,0	
Quot.	- 0,144	0,676	- 0,384	- 0,141	- 0,170	0,113	0,091	0,035	1,0

EINFACHE LINEARE REGRESSION

KORRELATIONSMATRIX

ALTER: 1 JAHR

Tabelle 6

Geschl.	Geschl.	Kall.	Kreat.	Na	K	RR syst.	RR diast.	Gewicht	Quot.
	1,0								
Kall.	- 0,002	1,0							
Kreat.	0,032	0,289	1,0						
Na	- 0,033	0,144	0,489	1,0					
K	0,029	0,353	0,426	0,113	1,0				
RR syst.	0,131	- 0,049	- 0,005	- 0,024	- 0,000	1,0			
RR diast.	- 0,088	0,009	0,084	0,016	0,002	0,446	1,0		
Gewicht	0,340	- 0,085	- 0,064	- 0,157	- 0,004	0,207	0,063	1,0	
Quot.	- 0,090	0,590	- 0,362	- 0,416	- 0,018	0,018	0,003	0,061	1,0

EINFACHE LINEARE REGRESSION

KORRELATIONSMATRIX

ALTER: 2 JAHRE

STANDARD REGR. KOEFF

	1 Jahr (n = 132)			2 Jahre (n = 111)		
	gesamt	männlich	weiblich	gesamt	männlich	weiblich
Kreat.	r = 0,251 p = 0,024	(r = 0,086) (p = 0,583)	r = 0,368 p = 0,028	r = 0,356 p = 0,002	r = 0,351 p = 0,027	r = 0,389 p = 0,025
Na ⁺	(r = 0,003) (p = 0,977)	(r = 0,128) (p = 0,371)	(r = 0,209) (p = 0,205)	r = 0,365 p = 0,002	r = -0,419 p = 0,003	r = -0,300 p = 0,061
K ⁺	(r = 0,029) (p = 0,789)	(r = 0,071) (p = 0,639)	(r = 0,249) (p = 0,157)	r = 0,243 p = 0,013	r = 0,331 p = 0,015	(r = 0,077) (p = 0,609)

Kallikrein/ml Urin = Abh. Variable
Korrelationen nach multipler lin. Regression

AUSSCHIEDUNG VON KALLIKREIN (KE/24 h) bei UNTERSCHIEDLICHER NATRIUMZUFUHR

Normotoniker		Essentielle Hypertoniker	
	Na+	Na-	Na+
KE/24 h	57,1 ± 10,2	172,0 ± 25,4	55,9 ± 19,3
GESAMT-KOLLEKTIVE	n = 11	n = 11	n = 12
Urinvol./24 h	1231 ± 25	1427 ± 228**	1199 ± 219
KE/24 h	59,4 ± 14,1	190,8 ± 27,4	44,5 ± 16,6
SALZSENSITIVE			
Urinvol./24 h	1090 ± 91,9	1730 ± 481	1688 ± 255
KE/24h	55,2 ± 15,7	156,5 ± 41,9	67,1 ± 36,4
NICHT SALZSENSITIVE			
Natrium	1350 ± 94	1175 ± 93,5	916 ± 193

*** p < 0,001 für Na- gegen Na+

AUSSCHIEDUNG VON KALIUM+ UND NATRIUM+ IM URIN

	Normotoniker		Essentielle Hypertoniker	
	Na +	Na -	Na +	Na -
Kalium	67,5 ± 5,0	145,2 ± 12,4***	64,7 ± 5,2	90,3 ± 12,2
GESAMT- KOLLEKTIVE	n = 12	n = 12	n = 14	n = 14
Natrium	179,0 ± 14,5	33,9 ± 6,8***	154,0 ± 22,0	48,7 ± 4,4***
Kalium	61,6 ± 8,4	140,4 ± 10,0**	76,8 ± 8,4	99,1 ± 12,8
SALZSENSITIVE				
Natrium	159,4 ± 13,9	27,8 ± 7,6**	204,5 ± 42,5	44,5 ± 5,1*
Kalium	71,8 ± 6,2	148,7 ± 20,8**	55,6 ± 5,0	83,7 ± 19,6
NICHT SALZSENSITIVE				
Natrium	193,1 ± 22,2	38,2 ± 10,5***	116,1 ± 11,1	51,8 ± 6,8**

*** p < 0,001

** p < 0,01

* p < 0,05

Tabelle 10

KREATININAUSSCHIEDUNG IM URIN (g/24 h)

Normotoniker Ess. Hypertoniker

	Na ⁺	Na ⁻	Na ⁺	Na ⁻
GESAMTKOLLEKTIVE	1,69 ± 0,09 n = 12	1,66 ± 0,07 n = 12	1,50 ± 0,12 n = 14	1,53 ± 0,13 n = 14
SALZSENSITIVE	1,47 ± 0,13 n = 5	1,62 ± 0,11 n = 5	1,73 ± 0,22 n = 6	1,57 ± 0,22 n = 6
NICHT- SALZSENSITIVE	1,86 ± 0,10 n = 7	1,69 ± 0,10 n = 7	1,34 ± 0,12 n = 8	1,39 ± 0,17 n = 8

Tabelle 11

Na ⁺ (mval)		K ⁺ (mval)		Kreat. (mg/ml)		
natrium- reich	natrium- arm	natrium- reich	natrium- arm	natrium- reich	natrium- arm	
G.L.: 179	36	80	88	1,79	2,21	männl.
K.A.: 103	80	39	68	1,40	1,35	männl.
H.E.: 81	40	51	50	0,82	0,53	weibl.
M.H.: 372	42	109	118	2,45	2,00	männl.

D A N K S A G U N G

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. P.C. Weber und Herrn Prof. Dr. med. B. Scherer für die Betreuung während der Anfertigung der Dissertation.

Während der experimentellen Untersuchungen bin ich durch Rat und Tat unterstützt worden von den Mitarbeitern der Abteilung Forschung Nephrologie der Med. Klinik Innenstadt, insbesondere Frau Hanna Schwaiger.

Für die tätige Mithilfe bei der statistischen Auswertung danke ich Herrn Dipl. Math. Dr. med. A. König und Frau BeraneK von der Med. Klinik, sowie Herrn Dipl. Math. P. Dirschedl und Herrn U. Kampe vom Institut für Med. Statistik und Biomathematik am Klinikum Großhadern, und für die Erstellung des Manuskriptes, Frau Brigitte Gebauer.

Ihnen allen gebührt mein aufrichtiger Dank.

Lebenslauf

27.03.1948: geboren in Garmisch-Partenkirchen, als Sohn des Großhandelskaufmanns Anton Stimmer und seiner Ehefrau Anna Stimmer, geb. Pfafflinger

1954-1958: Besuch der Volksschule Partenkirchen

1958-1968: Besuch des Werdenfelsgymnasiums in Garmisch-Partenkirchen, Abitur 1968

1968-1974: Studium Bauingenieurwesen an der Technischen Universität München

16.06.1975: Nach Diplomhauptprüfung mit Diplomarbeit Studium abgeschlossen

1975-1981: Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München

07.07.1981: Approbation als Arzt

Seit

01.05.1982: Assistenzarzt an der Abteilung Gyn./Geb.Hilfe des Kreiskrankenhauses in Garmisch-Partenkirchen

